ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE DES AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT.

SPECTROSCOPIE BIOLOGIQUE

—

SPECTROSCOPIE DU SANG

PAR LE

Dr ALBERT HÉNOCQUE

Directeur-adjoint du Laboratoire de Physique Biologique
du Collège de France

PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR,
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
Boulevard Saint-Germain, 120

GAUTHIER-VILLARS ET FILS,
IMPRIMEURS-ÉDITEURS
Quai des Grands-Augustins, 55

(Tous droits réservés)

UNIVERSITY
OF BRISTOL
MEDICINE

INTRODUCTION

—

J'ai eu pour but, en écrivant cet aide-mémoire, de démontrer que la spectroscopie biologique constitue une application de la physique aux sciences naturelles et à la médecine, nettement définie par l'exactitude de sa méthode d'analyse, et l'importance des découvertes qu'elle a produites.

Dans un exposé succinct de la technique spectroscopique, je me suis attaché à décrire complètement les procédés les plus simples qui sont pratiquables en dehors d'un laboratoire spécial et même auprès du lit des malades. J'ai dû me borner à l'étude des *spectres d'absorption*, *aux phénomènes des bandes*, mais ces notions générales sont suffisantes pour toutes les recherches biologiques, et plus particulièrement pour celles qui intéressent la médecine.

En prenant comme premier type, la partie la

plus importante de ces études, la *spectroscopie du sang* à travers l'organisme entier, j'ai choisi le sujet de recherches longuement poursuivies et dont les résultats, présentés pour la première fois dans leur ensemble, assureront, je l'espère, la consécration de mes efforts pour la simplification, la vulgarisation et les progrès de cette partie de la science biologique.

A. HÉNOCQUE.

CHAPITRE PREMIER

—

DÉFINITION DE LA SPECTROSCOPIE BIOLOGIQUE

1. — La *Spectroscopie* est une partie de la *physique* ayant pour objet l'étude des *spectres lumineux* dans leurs rapports avec la constitution des corps qui les produisent ; elle comprend les méthodes et les procédés qui constituent l'*analyse spectrale* qualitative et quantitative.

Inventée, il y a 34 ans, elle fut, dès le début, appliquée à l'étude essentiellement physique de la lumière, quelle que soit l'origine des radiations lumineuses, qu'elles proviennent des astres, qu'elles soient produites par l'incandescence des métaux, des vapeurs, des gaz, ou qu'elles traversent les milieux colorés naturellement ou artificiellement.

De la diversité des objets soumis à l'analyse spectrale et de la multiplicité des applications des méthodes et des procédés de la spectroscopie dans les sciences les plus diverses, en astronomie, en physique, en chimie, en physiologie, dans les diverses branches des sciences naturelles, et dans plusieurs industries, il est résulté que les acquisitions si nombreuses dues à la spectroscopie sont disséminées dans les publications les plus dissemblables, n'ayant de lien commun que l'analyse faite au moyen du spectroscope. Par conséquent il est nécessaire d'établir certains groupements plus naturels dans l'étude de ces phénomènes très complexes. Nulle *spécialisation* n'est mieux indiquée que celle de la spectroscopie appliquée aux sciences biologiques et que je définis ainsi :

La Spectroscopie biologique est l'étude des phénomènes spectroscopiques observés dans les corps organisés, l'organisme et les produits organiques. La spectroscopie biologique est une partie de la science logiquement et naturellement délimitée parce que 1° elle a son origine dans la science physique pure ; 2° ses méthodes, ses procédés, ses lois, ses déductions présentent la plus grande précision en même temps qu'une merveilleuse puissance de pénétration

dans l'analyse infinitésimale; 3° ses objets d'étude s'étendent dans toutes les divisions des sciences biologiques; 4° enfin, ses applications pratiques offrent déjà une haute importance pour la médecine, la thérapeutique, la toxicologie, la médecine légale, la physiologie, la chimie biologique, l'analyse des falsifications, la botanique, l'agronomie, et un grand nombre de recherches industrielles et scientifiques.

2. Méthodes. — La *Spectroscopie biologique* repose sur des méthodes et des procédés qui présentent toute la rigueur des moyens d'analyse basés sur l'optique physique. Les appareils qu'elle emploie sont ceux de l'analyse spectrale en général, mais elle offre cet avantage que son instrument d'étude le plus pratique est en même temps le plus simple, c'est le spectroscope à vision directe inventé par M. Janssen pour l'analyse spectrale des astres, et qui a été adopté avec quelques modifications à nos études spéciales. L'éclairage préféré est la lumière solaire, mais celle du gaz, de la lampe carcel, des lampes à pétrole, la lumière électrique par incandescence, conviennent à la plupart des recherches. Les instruments d'étude plus approfondie, tels que l'hématospectroscope de grand modèle, sont eux-mêmes ramenés à la forme la plus simple et la

plus pratique ; avec eux, il est possible de déterminer la position précise des bandes d'absorption, et aussi de les définir, de les mesurer, d'en reproduire l'image exacte ou encore de les représenter par des formules des notations et des courbes, d'un usage général.

La technique de la spectroscopie devient rapidement familière à ceux qui la pratiquent et ainsi que je l'ai bien souvent observé chez mes élèves, c'est vraiment une jouissance scientifique que de constater dès le début de ces études avec le spectroscope à vision directe, la décomposition de la lumière en plages présentant les couleurs les plus vives, les plus franches, s'unissant par des teintes dégradées variées à l'infini, dans lesquelles apparaissent ces fines raies de Frauenhofer que Newton lui-même n'avait pas vues et qui représentent de précieux repères pour circonscrire les moindres régions du spectre.

La démonstration de la précision des procédés techniques se fera d'elle-même en divers chapitres, mais dès maintenant j'attirerai l'attention sur les lois qui président à l'analyse des spectres d'absorption, c'est-à-dire des spectres qui sont presque exclusivement étudiés, quant à présent, en biologie.

Depuis Vogel et Vierordt nous savons qu'un

phénomène spectroscopique caractérisé par une ou plusieurs bandes d'absorption, c'est-à-dire par des interruptions obscures plus ou moins larges en diverses plages du spectre se reproduit toujours identique à lui-même lorsque les conditions d'éclairage, de concentration, d'état chimique des corps ou des liquides colorés sont les mêmes.

Il est également démontré que les phénomènes d'absorption des substances colorantes sont, d'une part, en proportion constante avec la quantité de matière colorante, et que, d'autre part, l'épaisseur de la couche observée aussi bien que le degré de dilution ont des rapports déterminés avec les phénomènes spectroscopiques, enfin ces lois dites lois d'absorption ou de Vogel sont applicables aux mélanges de plusieurs substances colorantes.

Ce sont là des théorèmes de spectroscopie générale dont la démonstration se répète constamment, mais il y a des méthodes et des principes qui intéressent plus spécialement la spectroscopie biologique. Un si grand nombre de matières colorantes d'origine animale ou végétale présentent des spectres d'absorption continus ou dégradés, à bandes multiples, avec des analogies telles qu'il serait difficile de déduire de ces phénomènes des

indications autres qu'une constatation de la relation qui existe entre la coloration d'un objet et celle des radiations absorbées. Nous trouverions, par exemple, que le sang à faible épaisseur, l'encre de carmin, le verre rouge des photographes, présentent ce caractère commun d'absorber tous les rayons autres que les rouges. d'où l'on devra conclure que ces matières colorantes sont des types de substances rouges. Nous en rapprocherions facilement des types de colorations jaunes, vertes, bleues, caractérisées par l'obscurité de certaines plages du spectre. Ce serait une sorte de classement des objets étudiés en biologie, une collection de spectres qui pourrait constituer une élégante iconographie; mais le but de la spectroscopie est plus directement scientifique et pratique, ce qu'il importe de rechercher dans l'étude des spectres c'est la détermination des *spectres caractéristiques*, or ceux-ci peuvent se produire dans des conditions variées.

Les spectres du sang, de l'oxyhémoglobine matière colorante du sang et de tous ses dérivés physiologiques comme l'hémoglobine réduite, ou accidentels, comme la méthémoglobine, l'hémoglobine oxycarbonée, les hématines, toutes ces réactions spectrales sont caractéristiques par la seule position des bandes d'absorption, mesurées

avec soin, et dans des conditions déterminées de concentration et d'épaisseur. Mais certaines réactions chimiques, en transformant ces spectres, donnent aux observations une certitude définitive. D'autres spectres de substances colorées, d'origine organique, ne sont absolument caractéristiques que si on les étudie en ajoutant des réactifs chimiques aux humeurs ou aux solutions qui les contiennent, telles sont les matières colorantes de l'urine normale ou pathologique, l'urobiline, les urohématines, l'urohématoporphyrine.

Aux contre-épreuves chimiques, il faut aussi ajouter des procédés d'investigation d'ordre purement biologique, c'est ainsi que certaines réactions spectrales de la bile ne sont obtenues qu'à l'aide de réactifs chimiques chez divers animaux, le lapin, le cobaye, par exemple, mais chez d'autres, tels que le bœuf, le mouton, la souris, elles offrent des caractères spectroscopiques si précis qu'ils ont pu servir en quelque sorte de réactif physiologique à Schiff et à Vertheimer pour suivre les transformations de la bile dans l'organisme. En somme, la spectroscopie biologique a pour but, essentiellement analytique, la détermination des principes organiques par les phénomènes spectroscopiques, caractéristiques,

en s'aidant non seulement des réactions chimiques, mais aussi des résultats de l'expérimentation physiologique.

3. Objets d'étude. Applications pratiques. — Les études spectroscopiques s'exercent sur l'ensemble des sujets de science biologique les plus importants tels que la spectroscopie du sang, de la bile, des urines, des humeurs et des produits organiques, des pigments, des organes des animaux ou des végétaux, enfin même des substances minérales d'origine organique.

En physiologie générale, l'analyse spectrale a fixé les caractères de la substance colorante du sang, de ses modifications et de son rôle dans l'organisme; elle présente une perfection et une puissance d'analyse telles que nous pouvons ainsi que je l'ai démontré, affirmer la présence de l'oxyhémoglobine dans un globule rouge du sang vu de champ, c'est-à-dire suivant son grand diamètre; en d'autres termes, il est possible de reconnaître avec notre simple spectroscope à vision directe, une quantité d'oxyhémoglobine théoriquement égale à 30 millionièmes de milligramme, et pratiquement à cinq millionièmes de milligramme. Nous pouvons étudier le sang dans l'organisme vivant, dans les tissus, les humeurs, en analyser

la matière colorante qualitativement et quantitativement, même enfin, avec l'examen spectroscopique de la surface tégumentaire, de l'ongle du pouce, des muqueuses, il est possible de déterminer le phénomène de la réduction de l'oxyhémoglobine, et d'en déduire la mesure de l'activité des échanges entre les gaz du sang et les tissus, notion nouvelle de la plus haute importance dans l'étude de la nutrition à l'état normal ou dans les diverses conditions qui la modifient.

En pathogénie, ces données, qui sont dues à l'emploi de ma méthode hématoscopique, m'ont permis d'établir une distinction naturelle entre les anémies et la chloro-anémie qui est une anémie globulaire avec ralentissement des échanges.

L'hémoglobinurie, l'urobilinurie, l'urohématinurie, l'urohématoporphyrinurie, sont des états pathologiques, ou des manifestations de troubles de la nutrition que le spectroscope peut seul faire reconnaître.

En toxicologie, en médecine légale, le spectroscope démontre les diverses phases des intoxications par les gaz délétères, l'oxyde de carbone, l'acide carbonique, les vapeurs nitreuses, les nitrites, le chlorate de potasse et d'un grand nombre d'autres substances qui altèrent le sang. Il

donne le moyen de constater le moment de la mort.

C'est *en thérapeutique* et *en pharmacologie* que se sont présentées des applications aussi importantes qu'imprévues; en effet, l'étude de l'action des médicaments dits anti-thermiques, tels que la thalline, l'antipyrine, l'acétanilide, l'exalgine, le sulfonal, etc., sur la composition du sang et sur l'activité des échanges, démontre l'importance de ces recherches pour l'étude des effets des médicaments nouveaux. Or, si l'on examine l'influence des médications les mieux connues sur le sang, par exemple la médication martiale, l'action des iodures, il est impossible de méconnaître l'utilité de ces moyens d'analyse dans la pratique médicale. C'est surtout lorsqu'il s'agit de reconnaître et d'apprécier l'influence des médications thermales, des agents physiques l'eau, le froid, l'air comprimé ou raréfié, l'ozone, les divers exercices de sport, en général de tous ces moyens d'hygiène, de thérapeutique préventive ou de médications thermo-minérales, dont les effets se produisent non seulement passagèrement, mais aussi, lentement et consécutivement après leur emploi ; c'est principalement dans l'étude de leur influence sur le sang, sur l'activité de la réduction, que l'hématospectroscopie a ap-

porté et doit encore fournir de précieuses constatations pouvant servir de guide ou de contrôle.

Rappelons aussi très sommairement les progrès accomplis grâce à la spectroscopie *en zoologie*, dans l'étude des substances colorantes des humeurs, des hémolymphes, *en botanique*, dans l'analyse des chlorophylles et d'un grand nombre de matières colorantes d'origine végétale, enfin même *en pétrographie* et *en géologie* dans l'étude de certains minéraux tels que la parisite, la cérite où les bandes d'absorption si nettement caractéristiques des sels de didyme sont déterminées par un simple coup d'œil à travers le spectroscope, de même qu'il m'a été possible de retrouver dans les oursins fossiles, des traces de matière colorante rouge analogue à celle que renferment les espèces vivantes.

Il serait superflu d'insister sur la multiplicité de ces applications qui dépassent le domaine de la biologie pure, s'étendent à la technologie des couleurs, à la détermination des falsifications de substances employées dans l'alimentation, le vin, les viandes, les farines, et le poivre, les matières colorantes, plus ou moins toxiques.

Enfin, dans l'industrie, le spectroscope fait distinguer certaines couleurs artificielles des cou-

leurs naturelles, par exemple lorsqu'il s'agit de reconnaître l'alizarine ou la garance.

4. Historique. — C'est en 1860 que Kirchhoff et Bunsen ont inventé l'analyse spectroscopique appliquée aux substances chimiques, et deux années après, Hoppe Seyler fit usage de cette découverte pour l'étude de la matière colorante du sang; presque simultanément des esprits d'une haute valeur scientifique comprirent l'importance de la nouvelle méthode d'analyse.

En effet, Valentin, dès le 15 juillet 1862, publiait une sorte de manuel très concis de la spectroscopie appliquée à la physiologie, à la médecine et même à la médecine légale, qui est le premier essai de synthèse de spectroscopie biologique que l'on puisse citer.

Preyer, en 1866, inventa une méthode d'analyse quantitative de l'hémoglobine basée sur l'examen spectroscopique de dilutions du sang.

L'usage de la spectroscopie se propagea rapidement dans les centres scientifiques d'Europe et d'Amérique, ainsi qu'on en peut juger par l'énumération des principaux travaux, que je grouperai en périodes de dix années, en me bornant à ceux qui concernent les sciences biologiques.

De 1860 à 1870, *en Angleterre*, apparurent d'abord les recherches de Stokes (1864 à 1868)

dont l'importance est à juste titre établie par le nom de *bande de Stokes* donné à la réaction spectroscopique de l'hémoglobine réduite. Gaegem, en 1867, fait connaître la transformation de la matière colorante du sang en méthémoglobien sous l'influence des nitrites, puis Hérapath (de 1866 à 1869) institue les applications de la spectroscopie du sang à la médecine légale :

En France. — Les célèbres découvertes et les remarquables travaux de Janssen sur les raies telluriques du spectre solaire (1862-1864) sur la constitution des raies des protubérances du soleil (1868), de Mascart, sur la région ultra-violette du spectre (1864) sur les réseaux (1868) de Cornu sur la région intra-rouge (1872-1878) de Cailletet, *De l'influence de la pression sur les raies du spectre* (1872), constituent de mémorables progrès dans la Spectroscopie générale et astrale, mais les applications à la Biologie sont relativement restreintes, bien que Janssen eût, dès 1868, inventé le *spectroscope à vision directe.* Cependant après Balley (Strasbourg, 1868, *thèse*) Benoît de Montpellier publia en 1868 une thèse sur les spectres d'absorption qui réunit une grande partie des notions acquises à cette époque.

De 1870 à 1888, de grands progrès sont accomplis en France. Les leçons de Claude Bernard

sur l'asphyxie, et en particulier sur la combinaison de l'oxyde de carbone avec l'hémoglobine ou matière colorante des globules rouges du sang, ont été l'origine de nombreux travaux faits par des élèves de l'illustre physiologiste, à la même époque était publiée la remarquable thèse de Fumouze sur les spectres d'absorption du sang, qui date du 18 juin 1870.

En Allemagne paraissent les travaux de Vierordt qui constituent les principes de la spectrophotométrie appliquée à l'analyse quantitative des substances d'origine organique, le sang, etc. La première édition du livre de Vogel sous le titre de *Praktische Spectral Analyse Irdischer stoffe* (1877) est un véritable manuel d'analyse spectrale contenant un grand nombre de documents sur les spectres d'absorption qui intéressent les biologistes. Stroganow étudie le premier la réduction de l'oxyhémoglobine dans les veines d'un animal vivant. Gscheidlen, dans son traité de *Phisiologische Méthodik*, expose la technique de l'examen spectroscopique du sang. En Angleterre et aux États-Unis, les applications de la spectroscopie à la médecine sont l'objet d'importantes études. C'est ainsi que Sorby (1871) institue la technique des recherches médico-légales et Thudichum, de 1872 à 1877, publie un

nombre considérable d'observations dans lesquelles il s'efforce de démontrer que l'analyse spectrale est une des méthodes les plus importantes pour établir ce qu'il appelle l'« identification chimique des maladies ».

Rosenberg à New-York (1876) dans son *Essai des applications de la spectroscopie à la médecine scientifique et pratique* vulgarise en Amérique les principaux travaux allemands et anglais publiés à cette époque. Mais c'est à Philadelphie, en 1880, qu'apparaît le remarquable livre de Mac-Munn : *The spectroscope in medicine*, où sont exposées sous une forme concise, mais avec des planches très démonstratives, les notions de spectroscopie qui intéressent la physiologie et la pathologie.

De 1881 à 1882, je cite d'abord en France, les thèses de Branly, à Paris, de Lambling, à Nancy, les articles du *Dictionnaire de chimie* de Wurtz par Salet, Henninger, les publications de Coulier, dans le *Journal de Pharmacie*.

A cette même époque je poursuivais mes recherches dans le but de simplifier l'analyse spectroscopique du sang de façon à pouvoir l'introduire dans les recherches physiologiques, l'observation clinique, et enfin la pratique médicale.

Dès 1881, j'avais fait dans le *Dictionnaire Encyclopédique* un court résumé de *Spectroscopie Biologique*, mais c'est de 1883 à 1888 que je suis parvenu à instituer une méthode d'hématoscopie applicable avec des procédés nouveaux permettant d'effectuer l'analyse de l'oxyhémoglobine dans le sang non dilué, et d'étudier dans les tissus vivants et intacts les phénomènes de la réduction de l'oxyhémoglobine, c'est-à-dire l'activité des échanges entre le gaz du sang et les éléments des tissus. Par une série de publications à la Société de Biologie, à l'Académie des Sciences, aux congrès de l'Association scientifique de France à Grenoble, Nancy Toulouse et Paris dans la *Gazette Hebdomadaire*, et dans le *Dictionnaire Encyclopédique* de Dechambre (articles *Hématoscopie*, *Hémoglobine*, *Hémoglobinurie*), j'ai fait connaître la méthode qui porte mon nom et qui a été adoptée dans un grand nombre de laboratoires.

L'autorisation de faire au Collège de France plusieurs leçons sur la *Spectroscopie du sang* en 1888, et le prix Monthyon qui me fut décerné par la section de Médecine et de Chirurgie, de l'Académie des Sciences (1888) ont été la consécration de mes travaux.

En même temps, les recherches de mes élèves ont contribué à la vulgarisation de l'hématoscopie, telles sont celles de Arduin (*thèse sur l'Antipyrine*, Paris, 1885), Lejard (*des Anémies*, 1888), Vauthrin (*thèse de Paris*, 1887) G. Baudouin, mon collaborateur pour l'étude hématoscopique dans la fièvre typhoïde (*Ac. d. Sc.* 1888, auxquelles je dois ajouter les observations nom-

breuses des docteurs Tripet, Donatien Labbé, Lagrange, Luigi d'Amore à Naples, de Monjarras à Potosi, Paul Masoin de Louvain ainsi que les publications d'ensemble sur l'hématoscopie : de Jumon (*Résumé des leçons faites au Collège de France.* France médicale, 1888, nos 109, 110, 111) ; d'Augé (thèse de Montpellier, 1893. *De l'hématospectroscopie*) ; de Corrado (*Spectroscopia dei tissutivivie morti*, Napoli, 1892), les articles de Weiss à Vienne et Chodounski à Prague, et la *Revue Générale* du docteur Salle dans les *Archives de médecine militaire*, n° 9, 1894, et enfin la thèse de Porge (*De l'activité de réduction de l'oxyhémoglobine...*, Paris, 1893).

A ces travaux qui intéressent plus directement la spectroscopie du sang et ma méthode il faut ajouter des recherches analogues publiées à la même époque, en France, les importantes études d'Hayem sur la méthémoglobine, l'hémoglobinurie, l'urobilinurie celles de Bertin sur la méthémoglobine de Kiener et Engel, sur l'urobiline ; de Wertheimer, de Dastre sur la spectroscopie de la bile, enfin les perfectionnements apportés à la spectrophotométrie et à la spectrophotographie par d'Arsonval. Ces recherches seront signalées dans le cours de cet ouvrage, et il en sera de même des travaux publiés en Allemagne et en Danemark, par Otto, Hammarsten, Bohr, Zinoffky, Hoppe-Seyler.

CHAPITRE II

—

TECHNIQUE DE LA SPECTROSCOPIE

5. — Les spectroscopes. — Les spectroscopes, employés actuellement, présentent des différences de construction correspondant à la nature des observations auxquelles ils sont destinés, ces appareils peuvent être ramenés à trois types : les spectroscopes à réflexion avec un ou plusieurs prismes, les spectroscopes à vision directe, les microspectroscopes.

Je ne décrirai de ces appareils que le plus simple et le plus pratique, le *spectroscope à vision directe* avec lequel on peut faire toutes les études élémentaires de spectroscopie-biologique, et les recherches les plus précises si l'on y ajoute certaines modifications peu compliquées ; c'est pourquoi il est indispensable de

bien connaître la théorie et les indications techniques qui permettent l'usage pratique de cet instrument qui est *notre outil spécial.*

Le spectroscope à vision directe qui est représenté (*fig.* 1 et 2) ressemble à une petite lunette astronomique, il est formé de deux tubes glissant l'un dans l'autre, à frottement doux, le tube extérieur C porte à sa partie inférieure un diaphragme F qui laisse passer la lumière en la réglant sous forme d'un faisceau lumineux

Fig. 1. — Spectroscope à vision directe.

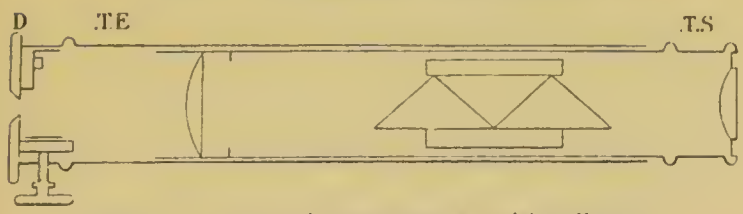


Fig. 2. — Coupe du spectroscope à vision directe.

traversant une fente très mince, mais d'une hauteur de plusieurs millimètres.

Le tube intérieur ou supérieur, TO renferme le système optique essentiel, c'est-à-dire le prisme composé. Tels sont les organes qu'il faut examiner successivement.

Le prisme. — Janssen, en utilisant la décon-

verte d'Amici sur la transmission directe de la lumière à travers un prisme composé de deux prismes de flint-glass alternant avec trois prismes de crown-glass, avait constitué le premier spectroscope à vision directe qui ait été employé pour la spectroscopie astrale, mais cette disposition a été simplifiée et le spectroscope du biologiste, tel que le construisent Lutz et la plupart des fabricants,est encore plus simple, car il n'est composé que de trois prismes, disposition plus particulièrement favorable parce que, grâce à la nature des matières originaires, le crown et le flint-glass, la perfection de leur taille et la mesure rigoureuse de leurs angles, les plages du spectre qui intéressent plus particulièrement le biologiste, c'est-à-dire le rouge, l'orangé, le jaune et le vert, sont très nettes et suffisamment étendues. La *fig.* 3 montre la marche des rayons lumineux dans ce prisme composé.

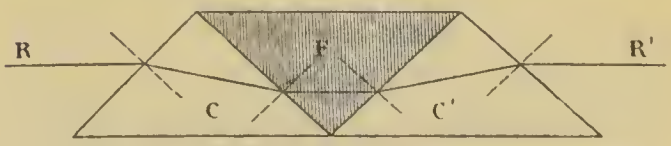


Fig. 3. — Marche des rayons dans le prisme composé, à vision directe.

Le rayon R en pénétrant le premier prisme de crown-glass C plus réfringent que l'air, se rapproche de la normale *n*, il s'en rapproche encore au point

de pénétration dans le prisme de flint F plus réfringent que le prisme de crown-glass, mais il s'écarte de la normale à sa sortie du prisme F pour traverser le prisme de crown C' et s'en écarte de nouveau en sortant du prisme de crown C' pour se transmettre dans l'air. En d'autres termes, la déviation du rayon R dans les prismes de crown est corrigée par le passage de ce rayon dans le prisme de flint, de sorte que le rayon sort en R' en projection directe, et l'œil, regardant verticalement dans le prisme composé, perçoit directement à la surface supérieure du prisme les rayons qui ont traversé la surface inférieure, c'est-à-dire qu'il perçoit le spectre de la lumière dans la direction même de la source lumineuse observée.

Toutefois, on observerait difficilement le spectre solaire en dirigeant ce prisme vers le soleil ou les nuages, parce qu'il faut l'entourer d'une enveloppe constituant une sorte de chambre noire.

Dans ce but, le prisme est enduit de noir de fumée dans ses diverses faces, sauf le plan de réception et celui de transmission, il est fixé par une gaine de liège dans le tube supérieur ou intérieur qui est lui-même noirci, et la seconde partie de la chambre noire est formée par le tube extérieur ou engainant, muni de son diaphragme.

Le *diaphragme* ou *collimateur* présente une importance extrême, il est le collecteur, le régulateur du faisceau lumineux dont les radiations le traversent pour se décomposer dans le prisme, c'est la fente de la chambre noire formée par le système optique du spectroscope. Toujours très étroite, car elle ne doit pas dépasser un quart de millimètre dans sa largeur mais doit pouvoir être réduite à une fente presque imperceptible pour l'étude des plages rouge et orangé, au contraire, elle doit être élargie dans l'examen des plages bleue et violette.

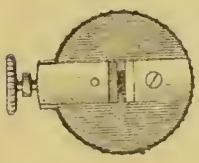


Fig. 4
Diaphragme.

Cette mobilité est obtenue par un dispositif très simple; en effet, le tube inférieur est terminé par une sorte de tambour ouvert du côté du prisme, et fermé du côté libre par deux volets métalliques taillés en biseau et pouvant se rapprocher ou s'écarter l'un de l'autre, par l'action d'une vis latéralement placée à l'extérieur du tambour et dont la pression sur un ressort fixé à l'un des volets élargit ou rétrécit la fente. Dans certains spectroscopes le réglage du diaphragme est obtenu sans vis mais par un mouvement de rotation du disque inférieur; cette disposition paraît plus simple, mais pour un usage répété, la vis de

pression est préférable parce qu'elle reste plus longtemps précise.

Si l'on introduit le tube oculaire à prisme dans le tube extérieur à diaphragme, l'instrument est disposé pour l'observation et, tel qu'il est, il représente la partie essentielle des spectroscopes plus ou moins compliqués, il peut servir à l'étude de toutes les variétés de spectres à condition qu'on suive méthodiquement certaines règles techniques que je vais préciser, en les exposant sous la forme quelque peu familière de l'une de mes leçons.

« *Lorsque vous achèterez votre premier spectroscope*, vous demanderez au constructeur de vous bien faire voir le spectre solaire et, pour cela, voici comment il procédera : placé devant une fenêtre, fixant le ciel, un nuage ou un mur blanc, vous le verrez tourner rapidement la vis du diaphragme pour en rendre la fente très étroite, puis mouvoir le tube oculaire dans le tube engainant à la façon du tube oculaire d'une lorgnette, pour mettre au point l'image du spectre, et il vous remettra l'instrument entre les mains. Si vous avez la vision normale, en tenant le spectroscope comme une lorgnette, de la main droite, et visant à votre tour le ciel, vous verrez aussitôt le spectre solaire, mais si vous êtes

myope ou presbyte il vous faudra, pour bien voir, mettre les lunettes ou le lorgnon qui vous donne habituellement la vision distincte vous arriverez plus tard à régler vous-même votre spectroscope à condition de procéder toujours méthodiquement :

1° Réglez l'ouverture du diaphragme de façon que la fente ait moins d'un demi-millimètre de largeur, ce qui se fait en tournant la vis latérale que vous aurez soin de mettre toujours du côté droit, dans les spectroscopes de Lutz ou les instruments analogues, de façon que la plage rouge du spectre soit à votre gauche et la plage bleue à droite.

2° Tenant le spectroscope de la main droite comme un gros crayon entre le pouce et l'index, le tube appuyé sur la phalangette du médius, vous visez le ciel ou un mur blanc, ou bien même un miroir disposé sur votre table, de manière à vous transmettre la lumière solaire diffusée par des nuages blancs ou gris, mais vous éviterez l'éclairage par les rayons solaires directs qui fatigueraient votre rétine sans avantage. Vous apercevrez d'emblée un spectre multicolore, mais il sera arrondi, les couleurs n'étant nettement délimitées qu'au centre, cet aspect prouve que vous n'êtes pas « au point de vision précise »,

il vous faut tirer le tube oculaire de façon à voir le spectre sous la forme d'un parallélogramme étendu transversalement mais dans lequel les couleurs sont disposées en tranches régulièrement perpendiculaires. Si vous êtes emmétrope vous tirerez lentement le tube d'une longueur de 15 millimètres environ ; si vous êtes myope, 5 à 10 millimètres suffiront, les presbytes devront sortir le tube de 15 à 20 millimètres. Et alors vous verrez non seulement le spectre solaire mais aussi de fines raies noires qui le traversent horizontalement. Vous êtes alors, sinon tout à fait au point, bien près d'y être. En effet, ces raies transversales sont produites par des irrégularités ou par des poussières microscopiques occupant les bords de la fente. (Elles représentent, pour la mise au point, ces fines poussières, les bulles d'air qui, observées dans les préparations microscopiques, vous préviennent de l'approche de la couche de vision précise).

Lorsque ce résultat est obtenu, il suffira de quelques tractions du tube oculaire opérées en tâtonnant sur une étendue de quelques millimètres pour obtenir le véritable point de vision distincte, c'est-à-dire le moment où vous percevez les principales raies de Frauenhofer. Vous distinguerez d'abord plus facilement la raie D

(qui doit être double dans les bons spectroscopes), placée dans le jaune orangé entre l'orangé et le jaune (*fig.* 5) elle vous apparaît comme un jalon de délimitation spectroscopique, point de repère fixe de toutes les notations spectrométriques indiqué dans toutes nos échelles, facile à retrouver dans tous les éclairages. Ces raies sont caractéristiques de l'absorption des vapeurs de sodium.

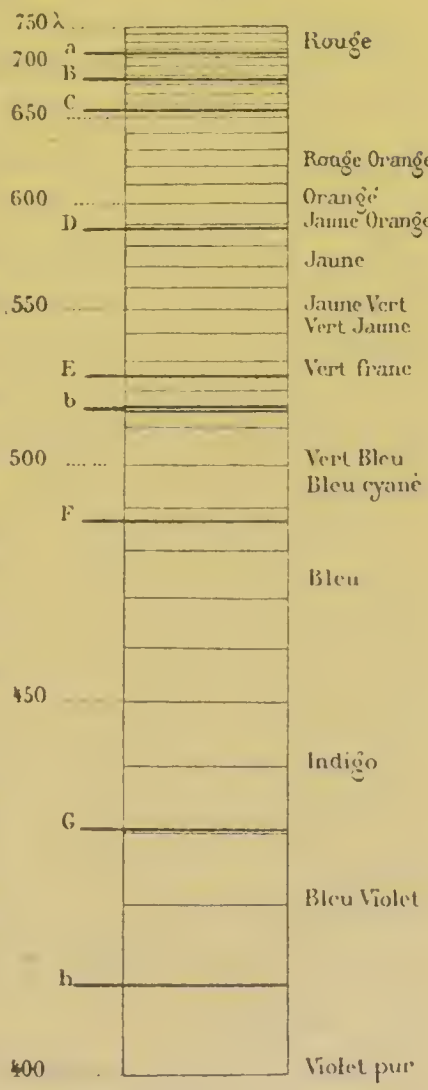
En cherchant vers la droite vous trouverez dans le vert des bandes E et *b* et enfin, à l'origine du bleu, la raie F, et plus loin encore, dans l'indigo, la raie *b* et dans le violet la raie H. Vous pourrez de même retrouver à gauche de D, dans le rouge, les raies C B et A. Au début, recherchez surtout la raie D, les raies E *b*, la raie F, qui sont les plus importants points de repère, mais quelle que devienne plus tard votre habileté, il ne faudra jamais oublier ce principe fondamental :

« *Il est indispensable, avant tout examen, de régler le spectroscope, de le mettre au point, de façon que les raies de Frauenhofer, soient nettement perçues lorsqu'on examine le ciel ou une surface bien éclairée par la lumière blanche diffuse* ».

La figure ci-après montre la position des raies

de Frauenhofer dans le spectroscope à vision directe de Lutz, avec leur concordance en longueurs d'onde et avec les couleurs.

Fig. 5



Un moyen de faciliter la mise au point dans l'instrument dont on se sert habituellement, est de tracer une encoche sur le point du tube extérieur où s'arrête la tête de vis qui se meut dans une rigole tracée dans ce tube lorsqu'on a obtenu la mise au point, de telle sorte qu'à chaque examen on n'ait plus à se préoccuper que du réglage du diaphragme.

La lumière solaire diffuse est la plus favorable pour l'étude de la mise au point, mais avec une lumière quelconque on arrive à ce but en notant le point précis de l'apparition des lignes horizontales dues aux poussières de la fente, ou bien encore en recherchant la raie D du sodium, de la manière suivante : on examinera dans l'obscurité la flamme d'une lampe à alcool, après avoir déposé un grain de sel sur la mèche. Le spectroscope montre alors la double raie lumineuse du sodium, vivement colorée en jaune, et qui doit être vue nettement et double lorsque la mise en point est bonne.

On peut aussi examiner le spectre d'un bec de gaz, d'une lampe, d'une bougie même, en ayant soin de produire autour de la flamme quelques poussières de chlorure de sodium en frappant avec la main quelques battements sur la manche de l'habit, à côté de la flamme. On sait que la sensibilité de cette réaction spectroscopique des sels de sodium est telle que Bunsen a pu déterminer la présence de $\frac{1}{3000000}$ de milligramme de sel marin dans la flamme du bec de gaz qui porte son nom.

Notre spectroscope à vision directe étant bien connu et disposé méthodiquement peut à lui

seul nous servir à établir entre les spectres des distinctions fondamentales.

6. Classification des spectres lumineux. — Les spectres observés avec le spectroscope composé de prismes, sont dits *prismatiques*, par opposition aux *spectres de diffraction* que produisent les *réseaux* (Voir p. 39).

1° Si avec le spectroscope à vision directe vous examinez la lumière du gaz, celle d'une lampe Carcel ou d'une lampe à pétrole, vous verrez un spectre lumineux, sorte de ruban coloré, montrant comme « l'écharpe d'Iris ou l'arc-en-ciel », des radiations intensivement colorées, disposées dans l'ordre naturel de la décomposition de la lumière, *rouge, orangé, jaune, vert, bleu, indigo, violet* ces couleurs primordiales étant réunies par une transition graduelle, c'est là ce qu'on appelle *un spectre continu*. On l'observe non seulement avec les sources lumineuses habituelles, l'huile d'éclairage, la bougie, le pétrole, le gaz, mais aussi avec les lumières intensives telles que les produisent l'éclairage oxhydrique, la lampe Edison, l'incandescence du platine, du fer en fusion, de la chaux, de la magnésie.

2° Examinons maintenant la flamme de plusieurs lampes à alcool sur la mèche desquelles auront été déposés quelques cristaux de chlorure

de cuivre, d'azotate de strontiane, de carbonate de lithine. Nous observons de fines raies lumineuses colorées se détachant sur un fond obscur soit dans le vert ou le rouge. Ce sont des spectres lumineux ou spectres d'émission, variant avec les différents métaux ou métalloïdes, dont ils démontrent l'existence dans les astres, ils sont aussi appelés *spectres de flammes*.

L'une des démonstrations les plus élégantes de ces spectres est obtenue par l'examen des flammes des feux de Bengale colorés où se détachent, sur des bandes sombres, de multiples raies lumineuses et de couleurs variées.

3° Plaçons entre le spectroscope et une lumière quelconque le verre rouge des photographes, nous n'apercevons que les plages rouge et orangé, une bande noire uniformément obscure masquant le reste du spectre ; avec un verre bleu de Cobalt nous voyons plusieurs bandes, dans le rouge, l'orangé, le vert, le violet. Avec des verres jaunes, verts, violets, le spectre sera obscurci en diverses parties plus ou moins séparées, enfin : examinons une solution de carmin, ou bien de l'eau colorée par du sang, nous observerons, suivant le degré de concentration de la matière colorante, un aspect analogue à celui du verre rouge des photographes, c'est-à-

dire la seule présence des rayons rouges pour les solutions les plus concentrées, ou bien deux bandes caractéristiques situées dans le jaune et dans le vert pour des dilutions de ces substances. Ce sont des *spectres de bandes* ou *spectres d'absorption*, les plus importants à étudier en spectroscopie biologique, ceux que nous pouvons constater non seulement *par transparence* dans des solutions contenues dans des vases de verre tels que des tubes, des flacons à faces parallèles, ou représentant des prismes plus ou moins allongés, mais aussi par l'examen direct, c'est-à-dire *par réflexion*, condition bien facile à remplir puisqu'il suffit d'examiner à la lumière solaire diffuse ou même directe, un papier coloré ou une étoffe teinte ou encore la surface cutanée pour reconnaître les spectres caractéristiques de la substance qui les colore.

Il existe des *spectres composés* avec des combinaisons fort variées. Le plus important de tous est le « spectre solaire » dans lequel on observe à la fois les raies d'absorption de la matière qui compose cet astre et aussi celles de l'atmosphère, ainsi que l'a démontré Janssen par des recherches célèbres qu'il a pu compléter au sommet du Mont-Blanc en septembre 1893. Les spectres composés peuvent présenter non seulement des

raies mais des renforcements de ces raies ou sortes de bandes, et il faut encore ajouter les *spectres continus* ou *partiellement continus*, que présentent les diverses matières colorantes. Enfin, il suffit d'examiner la lumière électrique produite par la combustion des charbons pour apercevoir des *spectres cannelés* de toute beauté.

Les gaz, les vapeurs, donnent des spectres d'absorption, sous forme de raies multiples, ainsi qu'on le voit dans la vapeur d'iode où les plages orangée, jaune et verte sont sillonnées de raies.

Dans les vapeurs rutilantes de l'acide hypoazotique, Brewster a compté 2000 raies du rouge au violet.

Enfin, les sels de didyme, d'erbium, examinés en solution, ou à l'état cristallin présentent des groupes de raies tellement rapprochées qu'elles ressemblent à des bandes d'absorption ».

7. Spectres de diffraction. — Ce sont les spectres produits par l'interférence de la lumière sur une série de fentes parallèles équidistantes et rapprochées les unes des autres. On les obtient au moyen des appareils dits « réseaux ».

Le réseau représente une sorte de micromètre, c'est-à-dire une plaque de verre ou miroir métallique sur lequel sont gravés de fins traits pa-

rallèles qui produisent les phénomènes de l'interférence. Le nombre des lignes doit être très grand sur un même espace ; elles sont tracées au diamant sur le verre ou bien une surface métallique polie, un miroir métallique, Nobert a ainsi construit pour Angström des réseaux sur verre présentant 88 à 220 traits par millimètre sur une largeur de 7 centimètres et Rowland, en Amérique, est arrivé à produire de magnifiques réseaux sur un miroir métallique concave de $2^m,44$ de rayon, offrant 570 traits par millimètre sur une surface rayée de 5 centimètres sur 7,5 centimètres.

Les phénomènes d'interférence des réseaux se retrouvent dans des corps organisés. En effet, les vives couleurs à éclat métallique des plumes des oiseaux-mouches, sont dues à la régularité et à la finesse des stries parallèles qu'on y peut observer facilement au microscope, il en est de même des élytres chatoyantes des scarabées et d'un grand nombre d'insectes, ainsi que des papillons ; enfin Ranvier a montré que l'on peut transformer en réseau les fibres musculaires dont les stries transversales sont si régulièrement diposées, d'où le nom de *myospectroscope* donné à l'appareil qui sert à démontrer ce phénomène.

Dans les spectres obtenus par les réseaux, les raies de Frauenhofer sont placées à des distances rationnelles, c'est-à-dire qu'elles sont en rapport constant avec le nombre des vibrations ou des longueurs d'onde, et aussi avec les indices de réfraction.

C'est en s'appuyant sur cette loi démontrée théoriquement et expérimentalement que Angström pratiqua ses recherches célèbres, dans lesquelles, après avoir établi que « les sinus des déviations correspondantes aux diverses couleurs sont directement proportionnels aux longueurs d'onde », il détermina la position précise de plus de 1 000 raies du spectre solaire.

Il est donc toujours indispensable de donner la position et les limites des lignes et des bandes par la notation en longueurs d'onde, pour rendre les observations comparables. En effet la représentation directe d'un spectre prismatique ne peut être utilisée dans les descriptions rigoureuses qu'à la condition de rétablir préalablement la concordance des distances que présentent les raies de Frauenhofer dans un spectre prismatique et celles des mêmes raies dans le spectre de réseau. Dans les premiers, ces distances sont irrationnelles et varient suivant la nature de la ma-

tière employée, d'où il résulte aussi des aspects fort différents dans l'étendue relative des plages colorées. C'est ainsi que, dans les spectres prismatiques la dispersion des radiations augmente vers le bleu et le violet, tandis que, dans les spectres de réseaux, les plages rouges sont plus étendues.

L'étude des *longueurs d'onde des raies du spectre solaire* faite par Angström ne s'étendait que de la raie A à H, c'est-à-dire de 7612 à 3935 dix-millionièmes de millimètre dans la partie perceptible pour notre œil, mais les remarquables travaux de Mascart, de Cornu, ont défini dans le spectre ultra-violet des raies dont les longueurs d'onde sont bien moindres ; c'est ainsi que R de Mascart n'a que 3177 dix-millionièmes de millimètre et V de Cornu 2948

L'observation des spectres métalliques ultra-violets étend bien plus loin le champ de l'observation, puisque la longueur de la raie 32 de l'aluminium est de 1852, c'est-à-dire moindre que les deux tiers de la raie V et l'on peut dire que l'observation des spectres métalliques double, à peu près, l'étendue du spectre ultra-violet.

Dans le spectre infra-rouge étudié par Becquerel et Langley, il a été possible de constater

l'existence de bandes froides ayant une longueur d'onde bien plus grande que la raie A, puisque Langley place la limite des rayons du spectre solaire infra-rouges à 27 000 dix-millionièmes de millimètres, c'est-à-dire à une longueur d'onde près de quatre fois plus grande que la raie A.

Ces résultats ont été obtenus indirectement par des moyens plus compliqués que ceux qui sont employés en spectroscopie biologique, par la photographie pour les rayons ultra-violets, par la phosphorescence et au moyen du bolomètre pour le spectre infra-rouge, mais pour les spectres d'absorption notre champ d'investigation s'étend jusqu'à présent de A à H, c'est-à-dire du rouge au violet.

J'ai groupé dans le tableau ci-joint l'indication des longeurs d'onde des principales raies de Fraunhofer, suivant les notations d'Angström en y ajoutant les longueurs d'onde de la partie moyenne des plages colorées, suivant les chiffres donnés par Rood. J'ai inscrit parallèlement le nombre des vibrations calculé suivant la formule $n = \frac{V}{\lambda}$ dans laquelle n est le nombre de vibrations V la vitesse de la lumière 300 330 kilomètres par seconde (suivant Cornu) et λ, la

longueur d'onde en millionièmes de millimètre.

Raies de Frauenhofer et milieu des plages colorées	Longeurs d'onde en millionièmes de millimètre	Nombre de vibrations par seconde en trillions
A.	761	394
a.	718	418
Milieu du rouge	700	428
C.	656	457
Milieu du rouge orangé.	640	484
Milieu de l'orangé. . .	597	503
D.	589	509
Milieu du jaune orangé.	588	510
Milieu du jaune	580	516
Milieu du vert franc . .	527	568
E.	527	568
b.	517	580
Milieu du vert bleu. . .	508	591
Milieu du bleu cyané . .	496	605
F.	486	617
Milieu du bleu	473	635
Milieu du bleu violet . .	438	685
G.	430	698
h.	410	732
Milieu du violet pur . .	405	742
H.	397	756

Les indications de ce tableau doivent servir de base à toutes les notations, elles permettent la construction des échelles nécessaires à la description des spectres, et à leur figuration colo-

riée, mais elles ne sont pas seulement techniques, elles démontrent l'étendue des radiations lumineuses que peut percevoir notre rétine, et la distinction qu'elle en établit entre elles, or, il est intéressant de comparer les résultats ainsi obtenus avec ceux qui circonscrivent la perception des ondes sonores par le nerf auditif. En effet, notre oreille peut percevoir des sons produits par 16 à 20 vibrations par seconde au moins, et au plus par 40 000 à 50 000 vibrations tandis que notre œil ne perçoit que les vibrations lumineuses de 400 billions (rayons rouges sombres) à 756 billions (rayons violets) ou bien en longueurs d'onde de 760 millionièmes de millimètre (A) à 396 millionièmes de millimètre (H). On peut dire que la différence des vibrations lumineuses perceptibles représenterait *une octave* dans la série des vibrations sonores ou bien encore sous une autre forme, que les longueurs d'onde perceptibles par l'oreille sont 1 000 000 de fois plus grandes que celles perçues par l'œil.

8. Description des Spectres. Spectrométrie, Spectrophotométrie. — L'on peut décrire les spectres, sommairement en indiquant la position et la largeur des raies ou des bandes, par rapport aux raies de Frauenhofer, en y ajoutant des notions sur l'intensité des bandes

d'absorption, et sur la couleur des plages qu'elles occupent, l'on peut aussi les représenter telles qu'on les voit, sur un spectre colorié, mais ces indications ne sont pas suffisamment exactes, et il a fallu chercher un mode de notation indépendant du degré de dispersion des appareils, qui varie suivant la nature et la combinaison des prismes. Il faut toujours rapporter la position des bandes, soit de leur centre, soit de leurs bords à des longueurs d'onde déterminées et conséquemment obtenir la concordance des degrés de toutes les échelles spectroscopiques arbitraires en longueurs d'onde correspondantes, soit à l'aide d'une formule, d'une courbe d'une table ou d'une échelle qu'on apprend facilement à construire. Il existe d'ailleurs des échelles préparées d'avance pour tracer par interpolation la courbe graphique d'un spectre (Salet, Lecoq de Boisbaudran). Je ne puis insister sur ces détails techniques. Le procédé le plus simple et que j'emploie consiste à reporter sur une échelle de Abbe que j'ai adoptée quant à la position des longueurs d'onde, les bandes en leur place et leur largeur exactes dans le spectre, ce qui est facilement exécuté au moyen d'une échelle de concordance entre les longueurs d'onde et les degrés de l'échelle spectrométrique de

l'appareil. L'intensité des bandes est plus difficile à reproduire, et l'on a accepté certains signes, conventionnels pour les indiquer dans les descriptions (Lecoq de Boisbaudran, Vogel, Salet, Benoit). mais une reproduction réelle de l'aspect des bandes est préférable. J'ai fait dans ce but graver des échelles où il suffit d'ajouter les bandes, en les copiant exactement et dans leur situation et avec leur intensité.

Si l'on veut représenter les bandes par des courbes, on trouvera un grand nombre de ces figures publiées dans l'*Agenda du chimiste* par Girard ou dans le *Dictionnaire de chimie* de Wurtz.

L'intensité des bandes peut être étudiée par des méthodes plus complexes, elles sont groupées sous le nom de *Spectrophotométrie* qui est l'étude de la *quantité de lumière absorbée* dans les diverses plages du spectre par les solutions de matières colorantes.

Les appareils employés ou spectrophotomètres sont nombreux et reposent sur des principes d'optique très divers. On en pourra consulter la description dans le supplément du Dictionnaire de Wurtz, ou dans la thèse de Branly [1], les plus connus sont les spec-

---

[1] Branly. — *Dosage de l'hémoglobine dans le sang*, Thèse de Paris, 1882.

trophotomètres de Vierordt, de Glahn, de Govi, de Trannin, de Gouy, auxquels se sont ajoutés plus récemment le spectrophotomètre de Hufner, instrument préféré en Allemagne et qui est basé sur la polarisation des rayons colorés, et enfin le spectrophotomètre différentiel sans polarisation de d'Arsonval [1] qui présente sur tous les appareils de ce genre, l'avantage d'une grande simplicité de construction et de manipulation qui en rendent l'usage très pratique pour l'étude des solutions colorées.

---

(1) D'Arsonval. — *Société de Biologie*. 18 mai 1889.

CHAPITRE III

—

SPECTROSCOPIE DU SANG

9. Historique. — La matière colorante du sang est pour le physiologiste et le médecin la plus importante de toutes les substances organiques présentant des caractères spectroscopiques spécifiques.

En effet, la substance qui donne au sang sa coloration en constitue la partie la plus essentielle puisque c'est par son intermédiaire que se fait dans l'organisme, la distribution de l'oxygène de l'air. Les chimistes se sont depuis longtemps appliqués à déterminer la composition de cette matière colorante, ils ont acquis des notions multiples sur les modifications que lui font subir les divers agents chimiques.

Il suffit de rappeler les noms de Denis, d'An-

dral et Gavarret, de Becquerel et Rodier pour montrer que dans la première partie du siècle, l'hématologie était basée sur les méthodes exactes de la chimie et que l'impulsion vers ces études venait de la France.

Claude Bernard en faisant intervenir les méthodes physiologiques et physiques d'analyse des gaz du sang, et d'évaluation de la capacité respiratoire, a démontré l'importance des phénomènes des échanges gazeux entre la substance colorante du sang et les tissus, s'associant ainsi aux découvertes de la spectroscopie qui ont définitivement établi les caractères précis de la matière colorante du sang, l'*hémoglobine*.

Hoppe-Seyler en 1862, publia dans les *Archives de Virchow*, un travail traitant de l'action de la matière colorante du sang sur le spectre de la lumière solaire ; ce fut une découverte et l'origine de la spectroscopie du sang. Il montra que le sang veineux des vertébrés, contient dans ses globules rouges deux matières colorantes, dont la transformation réciproque, facile à reproduire artificiellement, constitue un phénomène physiologique de la plus haute importance. Si le sang est mis en contact, pendant son passage à travers l'appareil respiratoire, avec une quantité suffisante d'air, il devient artériel et ne

contient plus qu'une seule de ces matières colorantes. L'autre a disparu, en fixant de l'oxygène, elle s'est transformée dans la première. Un phénomène inverse a lieu pendant le passage du sang à travers les capillaires des différents organes. Une partie plus ou moins considérable de la matière colorante unique cède son oxygène, et reproduit ainsi la matière colorante, propre au sang veineux. Cette transformation est rendue sensible à l'œil par les changements de coloration bien connus du sang agité avec l'oxygène ou l'acide carbonique.

Hoppe-Seyler a nommé *hémoglobine* la matière colorante du sang veineux qui, fixant de l'oxygène atmosphérique dans les poumons se transforme en oxyhémoglobine, à laquelle est due la rutilance du sang artériel.

La découverte était faite, mais presque en même temps, Valentin à Berne (1863) décrivait avec une grande exactitude les caractères spectroscopiques du sang veineux et du sang artériel, et une année plus tard, en 1864, Stokes qui connaissait les premières recherches d'Hoppe-Seyler, étudia à nouveau les caractères spectroscopiques du sang. Il n'est pas indifférent de citer les conclusions de son premier mémoire à la Société Royale de Londres : « La matière co-

lorante du sang, comme l'indigo, est capable d'exister en deux états d'oxydation qu'on peut distinguer par une différence de couleur et une différence fondamentale dans leur action sur le spectre.

« On peut la faire passer de l'état d'oxygénation supérieur au moindre degré d'oxygénation, par l'action des agents réducteurs et lui rendre son oxygène par l'absorption de l'air ».

Il est important de constater que c'était par l'examen direct du sang coagulé, divisé en coupes minces et examiné à la lumière solaire fournie par un héliostat, que Hoppe-Seyler, Valentin et Stokes firent ces premières observations, ce qui leur permit de déterminer la position des bandes d'absorption, par rapport aux raies de Frauhenhofer.

L'analyse qualitative de l'oxyhémoglobine était dès lors constituée.

Avec Preyer, en 1868, commencent les premiers procédés de l'analyse quantitative de l'hémoglobine ; Preyer se servait du spectroscope simple, mais depuis, Vierordt, Vogel, Glahn, Hufner, Branly, perfectionnant les méthodes physiques, ont appliqué la spectrophotométrie à l'étude de l'hémoglobine.

En résumé, de 1880 à 1883, ces travaux étaient

signalés et analysés en France, dans les thèses de Balley, de Benoit et la thèse si remarquable de Fumouze qui est la première monographie parue sur ce sujet, enfin dans les thèses plus récentes de Lambling et de Branly. Cependant, mettant à part quelques observations de Regnard, de Quincke et de Quinquaud, la spectroscopie du sang était réservée à l'expérimentation physiologique ; elle recevait quelques applications en médecine légale et en toxicologie, mais elle n'avait pas pris place dans l'observation clinique, c'est-à-dire l'observation journalière des malades. On ne saurait s'en étonner, puisqu'il faut se représenter la complexité des procédés et des appareils employés dans les laboratoires, ainsi que la nécessité d'obtenir une quantité de sang assez considérable au moyen de saignées, de ventouses et enfin les diverses manipulations du mélange du sang, avec un liquide neutre et les dilutions dans l'eau à l'abri de l'air.

Dès 1883, j'ai cherché à simplifier les procédés d'observation tout en les maintenant dans des conditions de précision rigoureuse et je me suis appliqué à régulariser l'emploi des appareils de spectroscopie, de façon à constituer une méthode d'analyse spectroscopique du sang applicable non seulement aux expériences qui ré-

clament des examens rapides et multipliés, mais encore aux observations des états physiologiques et pathologiques.

Cette méthode à laquelle j'ai donné le nom d'hématoscopie, par abréviation d'hémato-spectroscopie, a ouvert une voie nouvelle pour l'étude de la nutrition générale, et de la respiration interstitielle, c'est-à-dire de l'énergie des échanges qui se produisent dans l'intimité des tissus, entre le sang et les éléments anatomiques.

10. Caractères de l'hémoglobine. — L'hémoglobine est la matière colorante du sang qui constitue la masse des globules rouges ; elle est cristallisable, elle présente des réactions spectroscopiques caractéristiques, et a la propriété remarquable de fixer l'oxygène en combinaison instable ; elle existe dans le sang à l'état d'hémoglobine oxygénée et à l'état d'hémoglobine réduite.

L'usage a consacré le mot oxyhémoglobine pour désigner l'hémoglobine oxygénée, mais le terme hémoglobine devrait toujours être réservé pour exprimer la matière colorante du sang, sans distinction de l'état d'oxygénation ou de l'état de réduction.

Oxyhémoglobine. Préparation. — Les nombreux procédés employés, reposent sur ce principe général que l'oxyhémoglobine doit être séparée du stroma des

globules pour être soumise à la cristallisation. Le moyen le plus simple a été indiqué par Rollet, il consiste à détruire le globule par la congélation.

Pour l'examen microscopique des cristaux d'hémoglobine, on emploiera les procédés suivants : On dépose sur une lame de verre une goutte de sang défibriné de cobaye ou de chien, on la laisse évaporer jusqu'à ce que les bords commencent à se dessécher, ensuite on laisse tomber au centre une goutte d'eau et on recouvre avec la lamelle de verre, et l'on assiste alors à la formation des cristaux. On peut aussi ajouter une goutte d'éther ou de chloroforme à une goutte de sang défibriné et recouvrir avec la lamelle. Un procédé très simple que j'ai employé souvent consiste à recueillir du sang de cobaye dans du sulfate de soude en solution et à le traiter par l'éther.

Pour examiner au spectroscope l'oxyhémoglobine, il suffit de diluer du sang dans de l'eau et d'en étudier les réactions dans une cuvette prismatique, dans la cuvette de Preyer ou dans un hématoscope. Lorsqu'il s'agit d'obtenir des quantités d'oxyhémoglobine assez notables pour en faire l'analyse ou s'en servir pour établir des dilutions graduées, les procédés sont beaucoup plus compliqués. Il est indispensable de consulter les monographies et les traités de chimie pour exécuter pratiquement ces préparations.

Le procédé le plus employé est celui de Preyer dans lequel le sang défibriné est additionné de chlorure de sodium qui en sépare les globules. La masse globulaire est agitée avec l'eau et l'éther qui dissolvent la ma-

tière colorante, celle-ci est recueillie et on ajoute alors de l'alcool qui, diminuant la solubilité de l'hémoglobine en facilite la cristallisation. Il faut d'ailleurs pratiquer plusieurs cristallisations successives à la température de 0°, et ces manipulations sont fort délicates.

Propriétés physiques. — Les cristaux d'oxyhémoglobine se présentent sous l'aspect d'une poudre rouge clair, dans laquelle le microscope fait voir des formes cristallines variables suivant les animaux d'où provient le sang. Preyer les a décrites dans 47 espèces de vertébrés, et ses résultats ont été reproduits et complétés par Henninger. Elles appartiennent pour la plupart au système rhombique.

Chez l'homme, les cristaux forment des rectangles allongés, rhombes, à angle de 54°,6, ou des prismes à six pans ; ils appartiennent au système cristallin orthorhombique (Funke, Von Lang).

Ces différences dans la cristallisation se retrouvent pour la *solubilité* des diverses oxyhémoglobines qui sont dissoutes par l'eau en quantité variable.

L'oxyhémoglobine est soluble dans les dissolutions très-étendues d'alcalis, d'ammoniaque et de carbonates alcalins, mais elle s'y altère au bout de quelques jours, elle se dissout et se conserve au contraire dans la glycérine et les solutions étendues d'albumine, de sucre, de glycose ; elle est soluble dans l'urine et dans les diverses humeurs de l'économie, mais elle s'y altère rapidement. L'oxyhémoglobine est insoluble dans

l'alcool elle se décompose rapidement dans l'alcool étendu d'eau, elle est également insoluble dans l'éther, les essences, les huiles, le chloroforme, la créosote, le sulfure de carbone, la benzine.

Propriétés optiques. — Les cristaux d'oxyhémoglobine ont une coloration rubis éclatante lorqu'on les examine au microscope, ils sont biréfringents et d'une grande transparence, mais ces caractères disparaissent lorsqu'il y a mélange d'hémoglobine réduite, ou bien un commencement d'altération.

Les *réactions spectroscopiques* de l'oxyhémoglobine offrent une importance si capitale dans la spectroscopie biologique que nous leur consacrons plusieurs chapitres.

Propriétés chimiques. — L'oxyhémoglobine desséchée dans le vide au-dessous de 0 degré peut être conservée dans des tubes de verre fermés, à la température ordinaire ; elle peut être chauffée jusqu'à 100 degrés sans être altérée, placée sur une lame de platine à une température plus élevée elle se boursoufle, s'enflamme, donne une odeur de corne grillée et laisse un résidu d'oxyde ferrique rouge brun. Exposée à l'humidité ou dissoute dans l'eau elle s'altère rapidement, chauffée quelque temps à 70 ou 80 degrés, elle se transforme en hématine et en matière albuminoïde. L'alcool étendu mélangé d'ammoniaque, l'eau de chlore, l'acide acétique, décolorent les cristaux d'oxyhémoglobine. L'acétate de plomb et le sous-acétate de plomb ne précipitent pas l'oxyhémoglobine de ses solutions. Les acides en solution aqueuse produisent des

précipités de substances albuminoïdes colorés en brun par l'hématine. Les acides acétique, oxalique, phosphorique, tartrique, décomposent l'oxyhémoglobine en la dédoublant en hématine et en matière albuminoïde ou bien en la transformant d'abord en méthémoglobine. Les alcalis agissent plus lentement, cependant la potasse caustique, l'ammoniaque, amènent à des degrés divers la transformation en hématine et en méthémoglobine. Les réactions les plus remarquables sont celles que produisent les agents réducteurs, ceux-ci enlèvent à l'oxyhémoglobine son oxygène et la transforment en hémoglobine réduite. On verra plus loin quelle est l'importance de ce déplacement de l'oxygène.

Composition chimique. — Elle n'est pas encore déterminée définitivement en ce sens que nous ne possédons pas la formule rationnelle de cette substance, mais seulement des formules empiriques.

Les principes les plus importants de l'oxyhémoglobine sont le fer, le soufre et l'oxygène.

Fer et soufre. — C'est l'oxyhémoglobine qui contient tout le fer du sang, il importe donc de connaître la quantité exacte de ce corps et sa proportion relative par rapport au soufre et à l'oxygène. Or, les résultats obtenus par les divers observateurs présentent des différences notables qui sont dues à ce que la plupart d'entre

ont opéré sur de faibles quantités d'oxyhémoglobine, on admettait généralement que l'oxyhémoglobine des divers animaux renfermait 0,42 % de fer, et 0,65 % de soufre. Zinoffsky qui a disposé de quantités plus considérables, soit 200 à 250 grammes de cette matière colorante, donne des chiffres bien différents ; en effet, ses analyses faites avec le plus grand soin donnent comme quantité de fer 33,5 % et 39 % de soufre, par conséquent suivant lui le fer et le soufre seraient en combinaison définie dans l'oxyhémoglobine 1 atome de fer pour 2 atomes de soufre, d'où la formule suivante de l'oxyhémoglobine qui serait une *individualité chimique*

$$C^{712} H^{1130} Az^{214} S^{2} Fe O^{245}.$$

En d'autres termes l'oxyhémoglobine contiendrait 0,35 % de fer, 0,35 à 0,39 de soufre, 23 % d'oxygène, 15 % de carbone, 17 % d'azote et 6 % d'hydrogène.

L'oxygène contenu dans l'oxyhémoglobine est à l'état de combinaison faible, en effet, les cristaux humides ou les solutions de cette substance exposés dans le vide dégagent de l'oxygène.

11. Analyse qualitative et quantitative de l'Oxyhémoglobine. — L'emploi du spectroscope à vision directe rend très facile l'analyse

qualitative de l'oxyhémoglobine, parce qu'il suffit de quelques gouttes de sang déposées sur un godet de porcelaine blanche ou sur une plaque de verre ou de faïence blanche, ou enfin d'une solution de sang dans l'eau contenue dans un tube, pour reconnaître les caractères de l'oxyhémoglobine.

Lorsqu'on examine avec le spectroscope une solution d'oxyhémoglobine sous une grande épaisseur, ou mieux, du sang des artères ou des capillaires qui est une solution plus concentrée qu'aucune de celles qu'on puisse produire, il est facile de constater que tous les rayons colorés sont absorbés à l'exception des radiations rouges et rouge oranger, si l'on dilue cette solution en ajoutant de l'eau, on voit peu à peu réapparaître le bleu, entre le rouge et le vert existe alors une large bande; en ajoutant de l'eau, cette bande se divise en deux bandes, qui sont situées entre le jaune et le vert cyané et séparées par un espace jaune vert, la première bande située à droite de la raie D est la bande α, celle qui est située près de la raie E est la bande β. Ces deux bandes offrent une importance considérable, et elles sont en fait caractéristiques de l'oxyhémoglobine.

La détermination de la position précise de ces

deux bandes α et β a été l'objet de recherches qui n'ont pas donné des résultats tout à fait concordants, parce que les divers observateurs n'ont pas ramené leurs mesures à des quantités bien déterminées d'oxyhémoglobine. Cependant Jäderholm a trouvé que les parties moyennes de ces bandes correspondent pour la bande α à 577,5 λ et pour la bande β à 539,5 λ ou millionièmes de millimètre. De mon côté, j'ai établi que, lorsqu'on examine une dilution d'oxyhémoglobine ou même le sang à une certaine épaisseur, on observe le phénomène des *deux bandes également obscures, et occupant des espaces égaux en longueur d'onde* : or, les deux bandes mesurent alors $\alpha = 590$ à 570 millionimètres. $\beta = 550$ à 530 millionimètres : la partie moyenne est donc pour α 580 et pour β 540 millionimètres; ces deux résultats sont presque identiques.

Les deux bandes se retrouvent dans des solutions très faibles, à condition d'augmenter l'épaisseur de la couche liquide : en effet, Hoppe-Seyler a montré qu'on peut encore voir les deux bandes en examinant des solutions de $\frac{1}{100}$ de milligramme pour 1 gramme d'eau, soit $\frac{1}{100\,000}$. J'ai constaté qu'on peut voir ces deux bandes en observant les cristaux d'oxyhémo-

globine disposés en simple couche entre deux lames de verre, à l'aide du microspectroscope et j'ai également démontré qu'avec le microspectroscope on peut reconnaître l'oxyhémoglobine dans une couche de 3 à 4 globules rouges du sang superposés, ou dans les globules disposés en pile et examinés suivant leur tranche, et que d'autre part on peut reconnaître des différences de 6 millionièmes de milligramme d'oxyhémoglobine (*Archives de Physiologie*. juillet 1891).

L'examen spectroscopique suffit, lorsqu'il est pratiqué par des procédés exacts, à reconnaître l'oxyhémoglobine, mais on peut y joindre des réactions chimiques, par exemple l'étude de l'action des agents réducteurs sur les solutions observées; en d'autres termes, on peut répéter l'expérience de Stokes et rechercher la transformation de l'oxyhémoglobine en hémoglobine réduite ; cette constatation est surtout utilisée en médecine légale.

On obtient la bande de Stokes en traitant le sang par un agent réducteur, c'est-à-dire en transformant l'oxyhémoglobine en hémoglobine réduite ou hémoglobine privée d'oxygène. Il suffit de quelques gouttes de sulfhydrate d'ammoniaque, dans une solution de sang pour pro-

duire ce phénomène, très important à constater en médecine légale.

Nous verrons aussi au Chap. V, qu'il est possible de reconnaître l'oxyhémoglobine dans les tissus et à la surface cutanée, mais il est inutile d'insister ici sur l'analyse qualitative, parce qu'il importe surtout de pratiquer l'analyse quantitative (1).

Le dosage de la quantité d'oxyhémoglobine dans des solutions de cette substance, dans le sang plus ou moins dilué, dans le sang pur, peut se faire par des procédés ou des méthodes spectroscopiques très diverses qui peuvent cependant se ramener à deux groupes principaux suivant qu'on emploie seulement l'examen spectroscopique, ou bien que l'on se sert des appareils spectrophotométriques.

Méthodes spectroscopiques. — Preyer a le premier utilisé l'analyse spectrale pour le dosage de l'oxyhémoglobine. Il a pris pour principe que toute dissolu-

(1) M. d'Arsonval a signalé (*Société de Biologie*, 4 mai 1889), l'existence d'une troisième bande constante s'étendant de la raie *b* un peu au-delà de la raie H^2 correspondant en longueur d'onde de 430 à 390, c'est-à-dire qu'elle se termine dans l'ultra-violet. Cette bande peut être constatée au moyen de la photographie par des procédés de laboratoire que nous ne pouvons décrire ici.

tion de sang dans l'eau ayant un pouvoir absorbant équivalent à celui d'une solution titrée d'oxyhémoglobine contient une quantité d'oxyhémoglobine égale à cette solution titrée. De plus, il mesurait le degré d'absorption en déterminant la dilution nécessaire pour faire apparaître dans le spectre du sang la bande située dans le vert foncé, ces dissolutions étaient observées dans une cuvette « hématinométrique » c'est-à-dire une cuvette de verre en forme de parallélipipède rectangulaire à faces parallèles écartées de 1 centimètre.

Une formule permettait de déduire la quantité d'oxyhémoglobine suivant la quantité d'eau ajoutée à la solution pour produire l'apparition de la plage verte.

Ce procédé qui, entre les mains de l'auteur, a donné d'assez bons résultats, offre cet inconvénient qu'il est très difficile de vérifier exactement le moment de l'apparition du vert.

Des procédés analogues ont été employés par Hermann, par Leser qui se servaient de cuvettes prismatiques, mais ils ne paraissent pas avoir produit de résultats intéressants à signaler et ils ont été abandonnés pour les procédés plus exacts de la spectrophotométrie.

12. Méthode de l'auteur. Hématoscopie. Hématospectroscopie. Hématoscopes. — La plupart des procédés d'examen du sang, microscopiques, spectroscopiques ou chromomé-

triques, nécessitent des manipulations délicates, dont la première et la plus importante consiste à étendre le sang ou à le diluer dans des liquides ou sérums artificiels ; c'est du sang mélangé avec une certaine quantité d'eau ou de sérum qui est examiné, en d'autres termes, c'est un liquide mixte dans lequel on peut retrouver, plus ou moins intacts, les divers éléments morphologiques du sang, mais dont les caractères de coloration, de transparence et les réactions spectroscopiques sont nécessairement modifiés.

Dans le but d'éviter ces manipulations et ces transformations, j'ai pris pour base de ma méthode d'hématoscopie ce principe général « que le sang doit être examiné pur, tel qu'il sort des vaisseaux », afin d'apprécier non seulement la quantité d'oxyhémoglobine ou matière colorante active qu'il contient, mais aussi les diverses modifications que peut présenter l'hémoglobine. J'ai résolu le problème technique en remplaçant l'examen du sang dilué par celui d'une couche mince de ce liquide dont l'épaisseur rendue progressivement variable peut être mesurée et notée en valeurs métriques ; et l'appareil de précision qui permet cette étude est désigné sous le nom d'hématoscope d'Hénocque.

Description de l'hématoscope. — L'hématos-

cope est essentiellement constitué par deux lames de verre de largeur inégale. Elles sont superposées de façon à ce que, maintenues en contact à l'une de leurs extrémités, elles s'écartent, à l'autre extrémité, d'une distance de 300 millièmes de millimètres, limitant ainsi un espace prismatique capillaire; la position des lames est assurée au moyen de deux agrafes en laiton nickelé, supportées par la lame de verre inférieure, et formant deux coulisses dans lesquelles la lamelle supérieure est introduite à frottement doux (*fig.* 6).

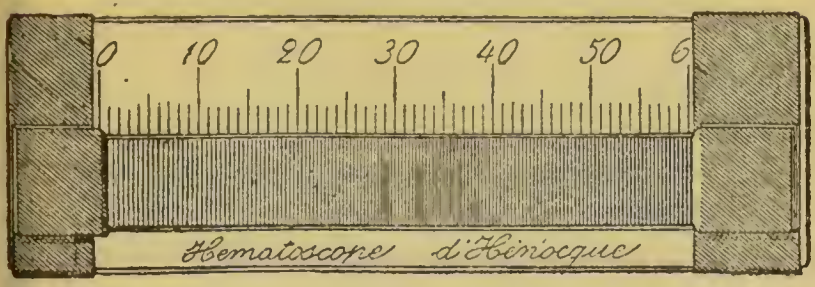


Fig. 6. — Hématoscope vu de face, grandeur naturelle.

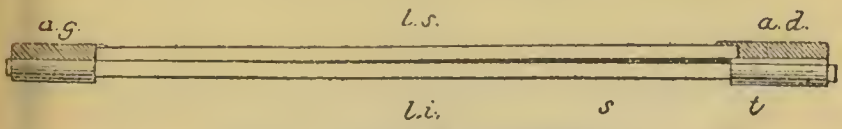


Fig. 7. — Coupe de l'hématoscope.

La disposition de ces diverses parties est représentée en coupe dans la *fig.* 7.

La lame inférieure *li* est séparée de la lamelle su-

périeure *ls*, par un espace prismatique S représenté en noir (et un peu exagéré dans la figure).

La lame inférieure porte à ses deux extrémités les agrafes de laiton; celle de gauche *a.g*, maintient les lames en contact; celle de droite présente un talon *t*, ayant 3 dixièmes de millimètres d'épaisseur, qui détermine l'écartement des deux lames. Ces deux agrafes forment les deux rainures ou coulisses dans lesquelles la lamelle supérieure glisse à frottement doux.

Une échelle graduée en millimètres est gravée sur la plaque inférieure, elle s'étend de 0 à 60 millimètres. Il résulte de cette disposition que si l'on fait pénétrer du sang entre les deux lames, celui-ci forme une couche dont l'épaisseur varie de gauche à droite entre 0 300 millièmes de millimètres ou *micras*.

L'on peut mesurer l'épaisseur de cette couche au niveau de chaque division de l'échelle; en effet, chaque longueur de 1 millimètre correspond à 5 millièmes de millimètres; en d'autres termes, la pente de la lamelle supérieure est de 5 millièmes de millimètres pour un millimètre.

Sous la division 1, l'épaisseur est de 5 micras.
Sous la division 14, l'épaisseur est de 70 micras.
Sous la division 40, l'épaisseur est de 200 micras.
Sous la division 60, l'épaisseur est de 300 micras.

En résumé, pour calculer l'épaisseur en millièmes de millimètre ou micra, il faut simplement multiplier le chiffre de l'échelle par 5.

Lorsqu'on introduit du sang entre les deux lames en en déposant quelques gouttes sur la tranche inférieure, ce liquide pénètre par capillarité et s'étend en couche d'une épaisseur graduellement progressive, de sorte que la coloration, nulle à o, devient rougeâtre, rouge, carminée et de plus en plus intense vers 60.

En d'autres termes, le sang forme une teinte progressivement plus foncée de gauche à droite. Il est évident que la teinte doit être d'autant plus foncée que le sang contient une plus grande quantité d'oxyhémoglobine ou matière colorante active, ce qui permet la mesure comparative et même quantitative de la richesse du sang en matière colorante active.

La quantité de sang que contient l'hématoscope est de 90 millimètres cubes.

Dans la pratique, quelques gouttes de sang sont suffisantes pour l'analyse, et, à moins d'anémie très grave, il n'est pas nécessaire de remplir l'hématoscope au-delà de 30 à 40 millimètres.

Technique du mode d'emploi. Maniement. — L'hématoscope doit être manié avec délicatesse, afin d'éviter de le briser ou de fausser les agrafes métalliques ; c'est pourquoi il est nécessaire d'observer les indications suivantes sur la manière de le disposer pour l'examen, de le nettoyer, de le vérifier et enfin de le charger de sang.

On s'habituera d'abord à faire glisser l'une sur l'autre les deux lames ; à cet effet, l'hématoscope étant saisi à ses deux extrémités, entre le pouce et l'index,

ainsi que le montre la *fig.* 8; on fait glisser la lamelle supérieure sur l'inférieure dans les rainures des deux agrafes, de bas en haut, par un mouvement des pouces en haut, et les index appuyant sur le bord supérieur de la grande lame. On peut ainsi séparer les deux lames pour les nettoyer, et il est ensuite facile de les superposer à nouveau par un mouvement en sens inverse, c'est-à-dire qu'on introduira la lamelle supérieure de haut en bas, en ayant soin de la

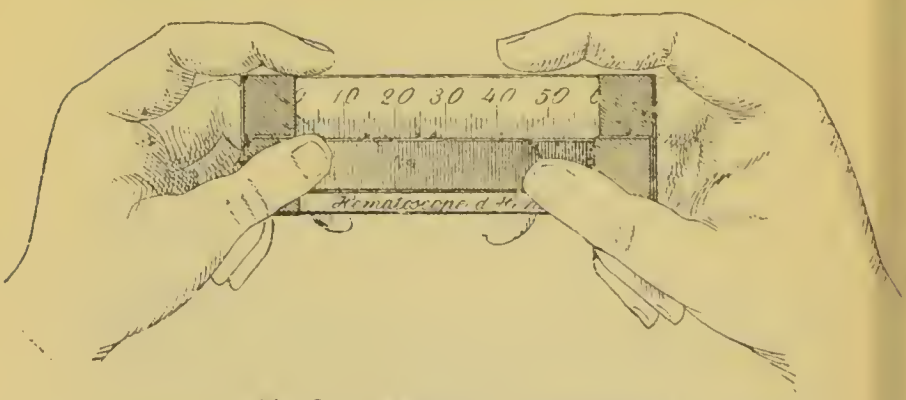


Fig. 8. — Maniement de l'hématoscope.

faire entrer dans les deux rainures en même temps, et parallèlement aux bords de la grande lame.

Nettoyage. — Les deux lames de verre seront lavées à l'eau et essuyées avec un linge fin ; pour les sécher on se servira d'un tampon de ouate ou de peau de chamois ou de flanelle, imbibé d'alcool ou d'éther, en évitant d'employer un excès de ces liquides qui pourrait altérer le ciment qui joint les agrafes au verre.

Si l'hématoscope contient du sang desséché, il faut

le laisser tremper dans l'eau froide assez longtemps pour qu'on puisse séparer les deux lames sans effort. Il faut bien nettoyer les rainures, et pour cela, on fera glisser entre le verre et le métal un morceau de linge fin; lorsque les deux lames sont bien lavées et séchées, elles glissent facilement l'une sur l'autre, et la moindre humidité apparaît vers le zéro de l'échelle.

Vérification de l'hématoscope. — Les hématoscopes sont construits par séries, et par le même fabricant; les lames de glaces sont polies et aplanies; les agrafes sont taillées dans une plaque de laiton d'épaisseur mesurée exactement, ce dont il est facile de s'assurer à l'aide d'un compas d'épaisseur. Je les vérifie au moyen de la photographie, et chaque hématoscope porte un numéro de fabrication, estampé dans la face supérieure des agrafes, ce qui permet un contrôle certain.

L'hématoscope doit remplir les deux conditions d'épreuves suivantes :

1° Du sang défibriné, une solution fortement colorée de carmin, d'aniline, ou bien du lait, déposés entre les deux lames, doivent présenter une teinte régulièrement dégradée de droite à gauche, sans ondulations notables, lorsqu'on place l'hématoscope chargé de la solution colorée sur une plaque de porcelaine ou une feuille de papier blanc éclairée par la lumière diffuse et placée horizontalement. 2° La reproduction photographique de plusieurs plaques chargées du même sang ou de la même substance colorante doit donner des teintes dégradées identiques, à condition que l'on

opère en même temps sur les hématoscopes, disposés dans un chassis à positif, sur une même plaque photographique au gélatino-bromure, avec un éclairage constant tel que le fournit un bec de gaz.

Introduction du sang dans l'hématoscope. — Pour examiner le sang recueilli sur un animal, il suffit d'en laisser tomber quelques gouttes dans la rainure inférieure que forment les plaques de verre, au-dessus de l'inscription « hématoscope d'Hénocque », en inclinant les plaques de façon que le sang pénètre entre elles par l'action de la pesanteur et par capillarité.

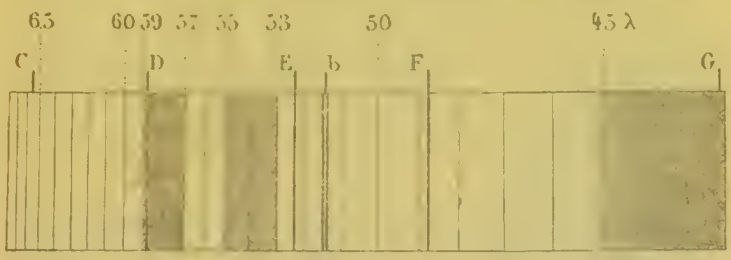
La capacité de l'espace prismatique est de 90 millimètres cubes ; mais, en pratique, on doit recueillir six gouttes de sang pour bien remplir l'hématoscope.

Pour examiner le sang de l'homme, il faut pratiquer à la partie externe de la pulpe du petit doigt, une piqûre à l'aide d'une lancette ou, de préférence, au moyen de l'aiguille que j'ai fait disposer de manière à pouvoir pratiquer rapidement une piqûre ne dépassant pas une étendue linéaire de 1 millimètre.

J'emploie actuellement pour les piqûres la *plume Jenner*, qui ne sert qu'une fois, comme dans les vaccinations.

Pour faire pénétrer le sang entre les lames, on applique le bord inférieur de l'hématoscope au niveau de la piqûre, et le sang, tombant directement dans la rainure, se distribue également entre les deux lames ; s'il y a des bulles d'air ou des espaces vides, de légers chocs pratiqués avec l'ongle sur la lamelle supérieure permettraient de régulariser la couche de sang.

Emploi de l'hématoscope dans l'analyse spectroscopique. — L'hématoscope simplifie l'ana-



Apparition des 2 bandes — Epaisseur 15 μ

2 bandes égales — Epaisseur 70 μ

Confusion des 2 bandes — Epaisseur 200 μ

Disparition du vert — Epaisseur 250 μ

Fig 9. — Phénomènes spectroscopiques du sang observé à diverses épaisseurs dans l'hématoscope (sang de l'homme contenant 14 0/0 d'oxyhémoglobine).

lyse spectrale de la matière colorante du sang et de ses diverses modifications.

En effet, si l'hématoscope chargé de sang pur est placé devant la fente d'un spectroscope, on peut étudier les bandes d'absorption que présente l'oxyhémoglobine sous différentes épaisseurs.

En faisant mouvoir lentement l'hématoscope de gauche à droite, on constatera successivement l'apparition des *deux bandes d'absorption caractéristiques de l'oxyhémoglobine*, puis leur élargissement, et enfin *leur confusion*, en même temps que la disparition de l'espace vert qui les séparait ; en d'autres termes, on observe le sang sous des épaisseurs variant de 0 à 300 millièmes de millimètre, et par conséquent c'est à peu près comme si l'on examinait des dilutions de sang variant entre $\frac{1}{60}$ et 1.

Dans cette expérience nous avons étudié le sang sous diverses épaisseurs et par tranches perpendiculaires au grand axe de l'hématoscope mais il est également fort important d'examiner le sang parallèlement au grand axe. A cet effet, l'on applique la fente du diaphragme sur l'hématoscope tenu verticalement le 0 en haut et le 60 en bas, et de faire glisser lentement le spectroscope dans le même sens, de façon à examiner

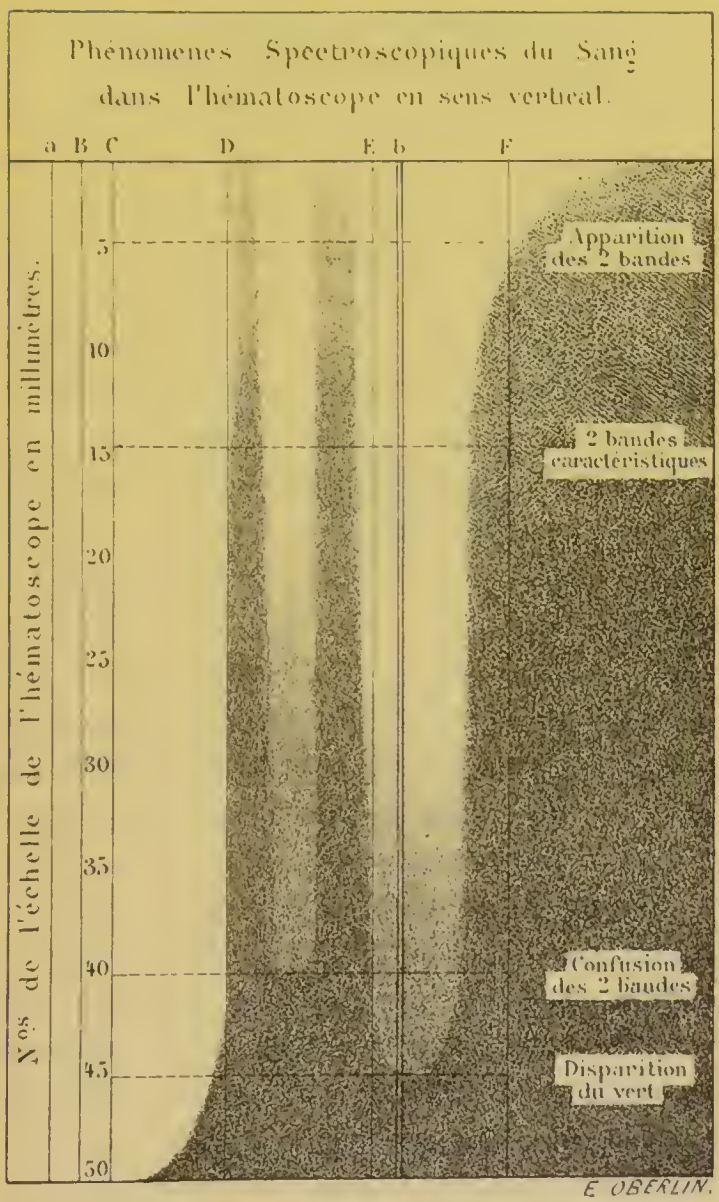

Phénomenes Spectroscopiques du Sang
dans l'hématoscope en sens vertical.
a B C D E b F
Nos de l'échelle de l'hématoscope en millimètres.
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
Apparition des 2 bandes
2 bandes caractéristiques
Confusion des 2 bandes
Disparition du vert
E OBERLIN.

Fig. 20

le sang de l'épaisseur 0 à l'épaisseur de 300 micras ; l'on retrouvera les phénomènes précédents mais avec un aspect encore plus saisissant, ainsi que le montre la *fig.* 10.

Avec l'hématoscope toute modification de la matière colorante est facilement étudiée ; le mélange d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine réduite, la présence de la méthémoglobine, de l'hémoglobine oxycarbonée, et en définitive tous les dérivés de l'hémoglobine, présentent dans l'hématoscope leurs réactions spectrales caractéristiques.

L'hématoscope peut servir non seulement à l'analyse qualitative de ces divers composés, mais encore à l'analyse quantitative du plus important d'entre eux, c'est-à-dire de l'oxyhémoglobine, c'est ce qui m'a conduit à instituer une méthode d'analyse spectroscopique du sang au moyen de l'hématoscope.

Principe de la méthode. — Lorsqu'on examine avec le spectroscope le sang contenu dans l'hématoscope, et qu'on étudie l'espace intermédiaire entre le moment d'apparition des deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine et celui où les bandes sont confondues, c'est-à-dire la disparition du vert, l'on perçoit, à une certaine épaisseur du sang, un aspect caracté-

ristique des bandes, que je désigne sous le nom de *phénomène des deux bandes également obscures*, et égales en longueur d'onde, et qui peut être formulé comme il suit :

Théorème. — Le sang contenant 1,4 % d'oxyhémoglobine examiné à la lumière du jour sous une épaisseur de 70 millièmes de millimètre avec un spectroscope à vision directe, à une distance ne dépassant pas 1 millimètre, présente les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine avec une teinte noire presque également obscure. Elles ont aussi une étendue égale dans le spectre si on les mesure en longueurs d'ondes ; elles occupent les espaces de 530 à 550 et de 570 à 590 millionimètres ou λ. La *fig.* 11 est la reproduction du phénomène sur une échelle en longueurs d'ondes dans laquelle les chiffres désignent 10 millionimètres par unité.

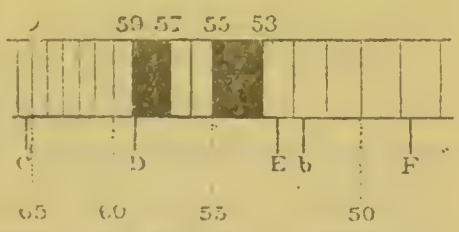


Fig. 11. — Phénomène des deux bandes égales en obscurité et en longueurs d'ondes.

La première bande de l'oxyhémoglobine (α) commence un peu avant la raie D et s'étend sur la plage comprise entre 590 et 570 millionimètres ; elle est séparée par un espace vert de la

seconde bande (β) qui occupe l'étendue de plage comprise entre 550 et 530 millionimètres, c'est-à dire qu'elle approche de la raie E.

Les deux bandes ne paraissent pas égales en largeur sur la *fig.* 11 et il en est de même à l'examen spectroscopique, parce que dans l'image du spectre telle que nous la percevons dans nos instruments, les espaces occupés par une même quantité de longueurs d'ondes vont en progressant du rouge vers le violet.

Ces difficultés disparaissent si l'on examine le spectre avec une échelle spectrométrique comme dans les hématospectroscopes décrits plus loin, p. 83 à 86.

Il est facile de comprendre que le *phénomène des deux bandes égales* étant pris pour type, se produira sous des épaisseurs différentes suivant que le sang est plus ou moins riche en matière colorante active ou oxyhémoglobine, et lorsqu'on étudiera le sang dans un hémastocope, l'on percevra les *deux bandes caractéristiques* à une épaisseur d'autant plus grande que le sang sera plus anémique. C'est l'étude de la loi de ces variations qui permet de faire l'analyse quantitative de l'oxyhémoglobine avec l'hématoscope.

Procédés. — Tous les spectroscopes peuvent

servir à examiner le sang dans l'hématoscope, à condition d'appliquer la plaque sur la fente, ou à distance fixe, de l'éclairer convenablement et d'en présenter successivement les diverses divisions de 0 à 60 au-dessous de la fente.

J'ai décrit deux procédés; le premier, très simple, est applicable aux examens rapides que comportent la clinique et les expérimentations où les observations doivent être multipliées en un court espace de temps; le second est un procédé de démonstration et de recherches réclamant une grande précision.

Le *premier procédé* consiste à examiner le sang à l'aide d'un spectroscope à vision directe, simple ou de préférence muni de l'échelle spectrométrique latérale telle que M. Lutz l'a construite suivant mes indications. Tenant l'hématoscope de la main gauche et verticalement, on se place devant une fenêtre, de façon à recevoir la lumière blanche diffuse des nuages, d'un mur blanc, d'un carreau dépoli ou d'un écran blanc, ou, enfin, d'un réflecteur de porcelaine blanche. La lumière du ciel bleu, ou plus ou moins nuageux, convient également.

Prenant le spectroscope de la main droite, on applique la fente à droite de l'agrafe gauche de l'hématoscope, près du zéro, et on fait glisser

l'instrument de façon à examiner successivement les diverses parties de la division 0 à la division 60 (*fig.* 9).

On peut ainsi observer des phénomènes identiques à ceux que présente l'examen de solutions plus ou moins concentrées de sang. Les deux bandes apparaissent vers 3 à 4 millimètres; elles deviennent plus foncées, égales vers 14; puis elles s'élargissent en s'estompant vers leurs bords; l'espace intermédiaire vert se rétrécit, diminue, et enfin, disparaît.

On note les divisions auxquelles ces trois phénomènes sont observés, de façon à pouvoir comparer les trois résultats.

Notation. Lecture de l'échelle. — L'échelle gravée sur la lame inférieure de l'hématoscope permet de lire à quelle division correspond la fente du spectroscope; mais il est plus facile de noter les divisions qui représentent les tangentes verticales parallèles au diaphragme ou disque supportant la fente, soit du côté gauche, soit du côté droit, et l'on prend la moyenne. Une seule notation suffit, à condition de déterminer d'avance la distance de la fente à l'un des bords, et de faire la correction nécessaire.

C'est ainsi qu'avec les hématoscopes à vision directe, il faut ajouter, suivant les cas, 6, 7 ou 8

au nombre de millimètres qui correspond à la tangente gauche, pour exprimer le chiffre exact de la division à laquelle on observe les phénomènes optiques précédents.

Par exemple, avec les hématospectroscopes à vision directe que M. Lutz a construits, en examinant le sang type, on trouvera que la tangente gauche correspond à sept divisions, et il faudra y ajouter le chiffre 7 pour avoir la position exactement correspondante à celle de la fente. C'est donc à 14 millimètres que celle-ci est placée.

Pour avoir l'épaisseur du sang, c'est-à-dire l'écartement des deux plaques à ce niveau, on multiplie 14 par 5, et l'on obtient 70 millièmes de millimètres ou 70 micras.

Évaluation de l'oxyhémoglobine. Échelle. — J'ai établi une échelle de concordance qui représente la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang, sous les diverses épaisseurs auxquelles on observe le phénomène des « deux bandes égales ». Il est indispensable, si l'on veut pouvoir comparer et discuter les résultats obtenus, de les exprimer suivant cette notation qui est basée sur des lois d'*absorption spectroscopique* et sur des examens répétés de sang pur, de sang défibriné, de sang dont le fer a

été dosé et dont la capacité respiratoire a été mesurée.

ÉCHELLE DE L'HÉMATOSCOPE D'HÉNOCQUE.

Distance à laquelle on observe le phénomène des deux bandes	Quantité d'oxyhémoglobine pour cent parties de sang
13 millimètres	15,0 %
14	14,0
15	13,0
16	12,0
17	11,5
18	11,0
19	10,0
20	9,5
21	9,3
22	9,0
23	8,5
24	8,0
26	7,5
28	7,0
30	6,5
32	6,0
35	5,5
39	5,0
44	4,5
49	4,0
54	3,5
60	3,2

Lorsque la fente du spectroscope coïncide avec es divisions millimétriques ind iquées ci-des-

sus (c'est-à-dire toute correction faite), le *phénomène des deux bandes égales* indique les quantités d'oxyhémoglobine correspondantes désignées dans cette *échelle* qu'il importe de consulter pour chaque examen.

Difficultés techniques. Éclairage. — 1° Il est important d'éviter la lumière très intense provenant directement des rayons solaires, et aussi une lumière colorée réfléchie comme celles des prairies et des arbres vivement éclairés ; la lumière préférable est celle d'un ciel bleu ou de nuages blancs et même grisâtres. Pour éviter l'influence de ces variations de la lumière solaire, il faut éclairer le spetroscope au moyen d'une plaque de porcelaine blanche, d'émail, ou même de papier blanc, servant de réflecteurs, et inclinés comme il convient.

2° Il faut tenir le spectroscope exactement appliqué sur la lamelle de l'hématoscope, pour être certain de la position de la fente et éviter l'action des rayons colorés que le sang transmettrait obliquement s'il était examiné à distance.

3° Il faut préciser le point d'apparition du « phénomène des deux bandes égales ». A cet effet, on devra faire exécuter au spectroscope des mouvements alternatifs de va-et-vient en le glissant de gauche à droite et de droite à gauche, de façon à bien déterminer le moment où les deux bandes sont presque également obscures, et égales en longueur d'onde.

L'échelle latérale spectrométrique, dans les spectro-

scopes à vision directe tels que les fabrique M. Lutz, offre un moyen de contrôle très utile, puisqu'il remplace toute appréciation par une mensuration. Néanmoins, lorsqu'on est familiarisé avec l'usage des spectroscopes, on peut, avec les plus simples de ces instruments, ne portant pas d'échelle latérale, apprécier très exactement le phénomène caractéristique. Dans ce cas, on se servira de l'indication suivante, suffisante pour la pratique ordinaire :

« La première bande, l'espace vert et la seconde bande forment trois plages progressivement plus larges de la première bande à la seconde, l'espace vert un peu plus étendu que la première bande, la seconde bande est un peu plus étendue que l'espace vert intermédiaire. Ces trois parties sont dans les rapports suivants : 5 — 6 — 7. L'*espace vert doit être bien clair* et les bords des bandes nettement accusés. Lorsque cet espace intermédiaire est voilé ou obscur, que les bords des bandes sont estompés, il y a dans le sang, mélange d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine réduite, ce qui s'observe dans le sang veineux, dans le sang incomplètement oxygéné, ou dans certaines altérations pathologiques. L'œil s'habitue rapidement à saisir ces détails. »

Il faut savoir que la bande de droite est toujours un peu moins obscure vers les bords, de sorte qu'on peut définir plus exactement le phénomène caractéristique en recherchant le point auquel on voit les deux bandes les plus foncées, avec l'espace intermédiaire verdâtre sans aucune obscurité.

13. Technique des hématospectroscopes. — L'importance que présente l'étude du sang m'a conduit à apporter au spectroscope à vision directe des modifications qui facilitent l'analyse du sang avec l'hématoscope, d'où le nom d'hématospectroscope donné à ces dispositifs dont je décris ceux qui sont le plus habituellement employés.

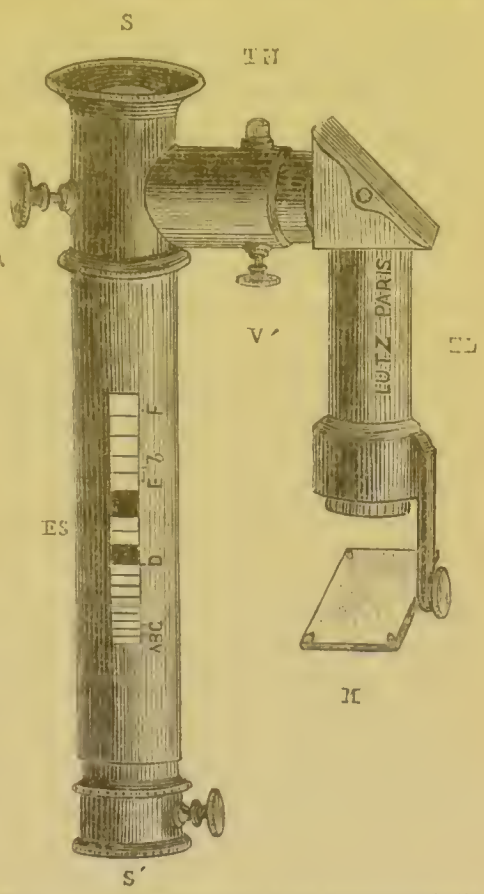


Fig. 12. — Hématoscope d'Hénocque à échelle latérale et à échelle en longueurs d'onde.

1° L'*hématoscope à échelles spectrométriques* (*fig.* 12), est composé d'un spectroscope à vision directe (voir p. 25), auquel est adapté un tube latéral LT, relié par un tube horizontal TH.

Le tube latéral renferme, dans sa partie supérieure, un petit prisme, disposé pour la réflexion totale, et à

sa partie inférieure, une petite échelle photographique portant de fines divisions. Entre le prisme et l'échelle est placée une petite lentille, et au-dessous du tube un miroir M, est mobile suivant deux axes.

Les rayons lumineux réfléchis par le miroir, sur l'échelle photographique en transmettent les divisions au prisme P, à réflexion totale et l'image de cette échelle est à son tour réfléchie, à angle droit, à travers le tube horizontal TH, sur la surface supérieure du prisme à vision directe.

Les vis V, agissant sur le prisme latéral et V', agissant sur le prisme composé du spectroscope, servent à faire mouvoir l'image de l'échelle photographique sur celle du spectre, de façon qu'on peut superposer le o ou un chiffre quelconque de cette échelle sur une des raies de Frauenhofer. Soit par exemple la raie D, on peut ainsi mesurer, en degrés de cette échelle, d'abord la position des raies de Frauenhofer, puis la largeur des bandes d'absorption, ou bien encore définir exactement leur position par rapport aux différentes raies de Frauenhofer.

Il est enfin possible de transformer facilement les divisions de l'échelle photographique, en mesure de longueurs d'ondes ; en effet sur le tube SS', est gravée une échelle spectrométrique de concordance qui est établie pour chaque spectroscope.

Voici un exemple de cette échelle :

Elle nous montre que les raies *a*, B, C, D, E, *b*, F, correspondent aux degrés de l'échelle photographique, 0, 1, 3, 10, 20, 22, 30 ; et que les deux bandes caracté-

ristiques de l'oxyhémoglobine α et β occupent les espaces suivants : α de 10 à 12 divisions, et β de 16 à 19.

Les notations de cette échelle présentent ce premier avantage de permettre la détermination précise du (phénomène des deux bandes caractéristiques) par une mensuration directe, c'est-à-dire plus facilement et

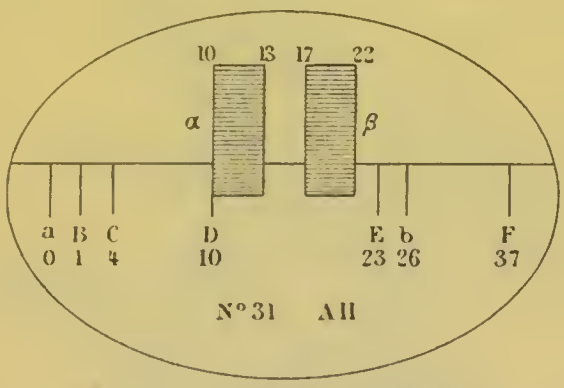


Fig. 13. — Echelle de concordance.

plus nettement qu'avec le simple spectroscope à vision directe, elle donne aussi le moyen de transformer les divisions en longueurs d'onde, par la simple reproduction du spectre observé, sur notre type d'échelle en longueurs d'onde ou sur l'échelle de Abbe. Voir p. 33.

Hématospectroscope grand modèle (fig. 14). Cet appareil est disposé pour les démonstrations et les mensurations les plus précises. Tous les mouvements sont opérés mécaniquement. Il est constitué par une partie (optique spectroscope), et une monture ou stative à colonne articulée supportant deux platines et un miroir.

La partie optique est un spectroscope à vision directe et à échelle spectrométrique latérale analogue à

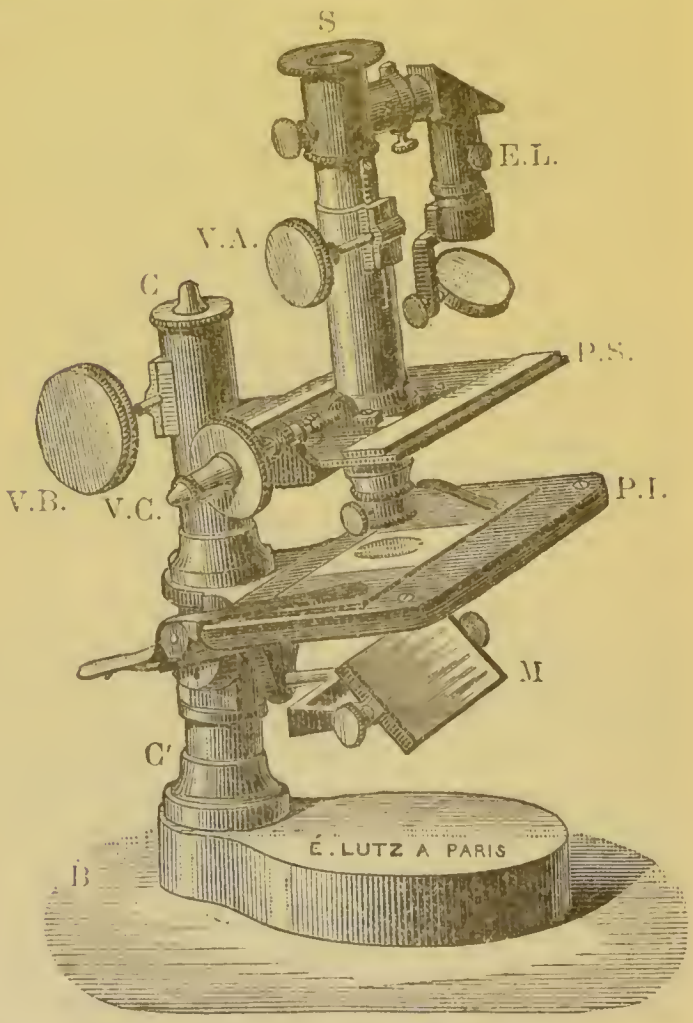


Fig. 14. — Hématospectroscope grand modèle.

celui qui est précédemment décrit. La mise au point est obtenue par la vis à crémaillère micrométrique VA,

et le spectroscope se visse sur la platine supérieure PS, et ainsi rattachée à la monture. Celle-ci est formée d'un large pied B, sur lequel est gravée l'échelle de concordance des raies de Frauenhofer avec les divisions de l'échelle spectrométrique, semblable à celle figurée p. 85. Ce pied supporte une colonne formée de deux parties articulées C et C′ qui permettent d'incliner le spectroscope sous différents angles.

La platine inférieure, ressemble à celle des microscopes, elle est destinée à supporter l'hématoscope, ou les cuvettes renfermant les liquides à examiner, et que deux chevalets permettent de fixer. Elle est percée d'une large fente qui est éclairée par un miroir M, placé au-dessous d'elle et mobile de façon que la fente du spectroscope puisse être éclairée en toute position et par toute lumière.

La platine supérieure est formée de deux plaques de laiton superposées et glissant l'une sur l'autre, la supérieure porte le spectroscope, elle est mobile latéralement sur l'inférieure, à l'aide d'une vis sans fin à tige horizontale montée par un bouton VC, qui permet des mouvements de latéralité alternatifs de cette plaque qui entraîne dans ses déplacements le spectroscope tout entier, ce plateau et le spectroscope peuvent en outre être élevés ou baissés, c'est-à-dire éloignés ou rapprochés de la platine inférieure au moyen d'une vis micrométrique VA. Enfin, sur le bord du plateau supérieur est gravée une échelle millimétrique dont le zéro est situé au milieu.

Pour examiner, au spectroscope, le sang contenu

dans un hématoscope, on procèdera ainsi qu'il suit : 1° mettre au point le spectroscope et son échelle en regardant le miroir ; 2° placer l'hématoscope sur la platine inférieure, de façon que la division 20 corresponde avec la ligne devisée. tracée sur le milieu de cette platine, et que la partie remplie de sang corresponde à l'ouverture quadrangulaire ; 3° rapprocher la platine supérieure de l'inférieure par la vis VB de façon que la fente du spectroscope vienne affleurer l'hématoscope ; 4° avec la vis VC on a préalablement placé le spectroscope de manière que le petit trait de repère, qu'il présente, coïncide avec le 0 de la règle millimétrique ; 5° à l'aide de mouvements de latéralité et par plusieurs tâtonnements, on étudie le spectre et l'on cherche le point où le phénomène des deux bandes apparaît nettement, et on le vérifie en constatant si les bandes examinées dans l'échelle spectrométrique occupent bien les espaces indiqués sur l'échelle de concordance gravée sur le pied.

Supposons que pour obtenir ce résultat, l'on soit obligé de manœuvrer le spectroscope vers la gauche, et que son point de repère soit placé sur la division 5, l'on concluera que le phénomène est observé dans l'hématoscope à 5 millimètres à gauche de la division 20 millimètres, c'est-à-dire à 15 millimètres, par conséquent la quantité d'oxyhémoglobine correspondante est de 13 % (voyez la table de la p. 80).

Si, au contraire, on était obligé de reporter le spectroscope à droite de 0 jusqu'à la division 4, pour observer le phénomène caractéristique,on concluerait que

celui-ci correspond dans l'hématoscope à $20^{mm} + 4^{mm}$ soit 24 millimètres, c'est-à-dire qu'il y a 8 % d'oxyhémoglobine dans le sang examiné (1).

(1) M. Lutz a, sur mes indications, établi plusieurs types d'hématospectroscopes répondant à diverses conditions spéciales, je me borne à en indiquer les titres :

L'hématospectroscope double à fente unique (permettant l'examen des phénomènes par deux personnes en même temps.

L'hématoscope de démonstration à manche (pour être tenu à la main).

L'hématospectroscope de l'étudiant simple, ou démontable dont le type est représenté dans la figure suivante (*fig.* 15).

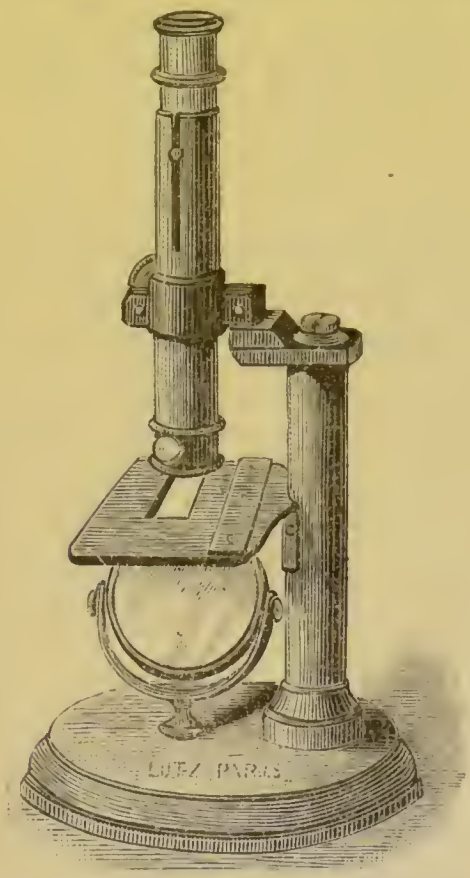


Fig. 15. — Hématospectroscope de l'étudiant.

CHAPITRE IV

—

APPLICATIONS DE L'HÉMATOSPECTROSCOPIE A LA PHYSIOLOGIE ET A LA MÉDECINE

L'analyse spectroscopique a provoqué de nombreuses recherches sur un problème que n'avaient pas résolu les procédés d'évaluation du fer dans le sang, de la capacité respiratoire, ou d'analyses chimiques et chromométriques. C'est que l'étude des variations de la quantité d'oxyhémoglobie sous l'influence des diverses conditions physiologiques, pathologiques, thérapeutiques et toxiques, réclame une multiplicité d'opération fort complexes. Les procédés récents de l'hématoscopie ont singulièrement facilité ces recherches. En effet, tandis que les observations de Quincke, de Preyer, ne concernent qu'un très petit nombre d'individus, Otto, en

étudiant la quantité d'oxyhémoglobine chez 25 hommes et 25 femmes et chez 16 chiens et 25 lapins, produisait un travail considérable et qui n'a été dépassé que par Leichtenstern, qui a observé 200 individus de sexe et d'âge différents ; dès 1888, je présentais une série de recherches faites sur 208 individus, et près de cent animaux divers, et depuis cette époque, c'est par plus de deux mille observations que j'appuie les conclusions suivantes.

14. — La *quantité d'oxyhémoglobine* contenue dans le sang de l'homme, à l'état physiologique, varie dans des conditions assez restreintes.

La *normale* chez l'homme de 20 à 50 ans, varie entre 13 et 14 %, chez la femme entre 12 et 13 %, mais la plupart des habitants des villes, ne présentent pas au delà de 13 %. Les professions exercent une influence certaine sur la quantité habituelle ou moyenne, c'est ainsi que chez les habitants des villes, la moyenne ordinaire est plus faible pour ceux qui se livrent aux carrières libérales ; chez un grand nombre de médecins, elle a été de 12 %, la quantité d'oxyhémoglobine bien davantage, dans les états pathologiques, il peut néanmoins descendre à 11,5 % et même 11 % chez la femme, sans qu'il y ait trouble notable dans l'organisme. Chez les gens vigou-

reux, les militaires, ceux qui sont entraînés aux exercices en plein air, les habitants de la campagne (quand ils sont robustes) la moyenne se rapproche de la normale 14 et peut même la dépasser, atteindre 14,5, c'est-à-dire arriver près du chiffre 15 qui caractérise la pléthore.

Dans l'enfance, entre 5 et 10 ans, la normale est plutôt abaissée, elle oscille entre 11 et 12 %, mais de 10 à 15 ans elle se relève, surtout chez les jeunes filles qui atteignent facilement 13 % à l'époque des règles ; au-delà, le chiffre normal est atteint 12 à 14 %.

Les *variations physiologiques* oscillent donc entre 11 et 14 % suivant l'âge, le sexe, et les divers états de croissance, de vigueur ou de fatigue.

Chez les femmes, pendant la période menstruelle, il y a diminution de la quantité d'oxyhémoglobine de 1 à 3,5 %, mais la réparation de cette perte sanguine temporaire se fait rapidement, en 2 ou 3 jours, ainsi qu'il résulte des observations du Dr Vauthrin, dont j'ai vérifié l'exactitude, tout en remarquant que, dans l'état de santé, il y a souvent, un ou deux jours avant l'apparition des règles, une augmentation de l'oxyhémoglobine de 1 % suivie d'une diminution de 1 à 2 % pendant l'époque et après 2 ou 3 jours une

nouvelle augmentation de 1 %, c'est-à-dire le retour à la quantité qui a précédé la phase prémonitoire dite « du molimen hémorrhagique ».

Les *variations diurnes* de la quantité d'oxyhémoglobine sont difficiles à constater ; suivant Vierordt et Leichtenstern, il y aurait une légère augmentation, après le repas de midi, mes observations avec l'hématoscope m'ont démontré que cette augmentation n'atteint pas 1 %, mais j'ai pu retrouver avec l'*analyseur chromatique*, contrôlé par l'hématoscope, une différence d'un demi à un quart pour cent entre les quantités d'oxyhémoglobine observées le matin à jeun et après un repas copieux à midi. L'usage des boissons aqueuses en excès ne modifie pas la quantité d'oxyhémoglobine ; au contraire, l'abstention de boissons et les sueurs répétées, une forte évacuation séreuse, telle que la produit une purgation, augmentent légèrement la quantité d'oxyhémoglobine (de $\frac{1}{2}$ à 1 %) (Leichtenstern, Hénocque) [1].

L'inanition modifie peu la quantité d'oxyhémoglobine. Subbotin a trouvé chez un chien

---

[1] Hénocque. — *Analyse du sang dans les tissus vivants : Analyseur chromatique.* Archives de physiologie, n° 1, 1893 et Comptes-Rendus de la Société de Biologie, 29 octobre, 5 novembre 1892.

inanitié le premier jour 13,8 % et le 38e jour 13,38 %.

Les exercices n'ont pas une action immédiate très appréciable, néanmoins la course, la marche, l'escrime, la gymnastique, le vélocipède, constituent les meilleurs moyens d'augmenter la quantité d'oxyhémoglobine par leur emploi régulier et prolongé. Cependant, lorsque ces exercices produisent la fatigue, surtout lorsqu'il y a essoufflement, avec une exagération de l'hémoglobine réduite, la masse totale de la matière colorante du sang est augmentée, mais cette augmentation porte sur la quantité d'hémoglobine réduite. A un degré plus élevé, la fatigue ou le surmenage d'une marche forcée produit des phénomènes de cyanose, c'est-à-dire une prédominance considérable du sang veineux ou pour mieux préciser une proportion exagérée de l'hémoglobine réduite dans le sang des veines, des capillaires et même des artères.

En résumé, les variations qu'on peut considérer comme physiologiques, chez l'homme et la femme, oscillent entre 11,5 et 14 % d'oxyhémoglobine, ou bien si l'on veut l'exprimer en d'autres termes, prenant pour unité 14 % de 0,80 à 1, soit environ un cinquième, ce qui correspondrait en nombre de globules à des varia-

tions entre 5 000 000 et 4 000 000 de globules rouges, en supposant que chaque globule renferme une quantité égale d'oxyhémoglobine.

15. — Les *divers états pathologiques* résultant de lésions traumatiques ou de maladies, produisent dans la quantité d'oxyhémoglobine des variations de la plus haute importance, en effet, la quantité d'oxyhémoglobine peut descendre au-dessous de 4 % et rester quelque temps à ce chiffre sans que la mort soit inéluctable. J'ai observé plusieurs accouchées qui ne présentaient que 4 % et j'ai même constaté la prolongation de la vie pendant plus de 3 ans chez une petite fille atteinte de coxalgie suppurée chez laquelle la quantité d'oxyhémoglobine a oscillé entre 3,5 et 4 ou 4,5 à 5 % au maximum. Néanmoins, à partir de 4 %, la vie est compromise, le danger est imminent et alors, l'indication de la transfusion se présente comme ressource extrême, surtout dans les cas d'hémorrhagies traumatiques, les métrorrhagies de l'accouchement, d'hématémèse de l'ulcère simple de l'estomac.

Les *anémies* forment plusieurs groupes d'affections protopathiques et symptomatiques qui présentent dans leur évolution les variations les plus étendues, dans la quantité d'oxyhémoglo-

bine, c'est pourquoi en dehors même de leur origine, il est important de les grouper suivant la quantité d'oxyhémoglobine. Au point de vue hématoscopique, il serait suffisant d'indiquer le chiffre de l'oxyhémoglobine, pour déterminer le degré d'anémie globulaire, cependant il est utile d'établir les divisions suivantes au point de vue clinique :

A partir de 11,5 à 11 %, il y a début de l'anémie;
" 10,5 à 9 %, l'anémie est confirmée;
" 8,5 à 7 %, l'anémie est intense;
" 6,5 à 4,5 %, l'anémie est grave;
" 4 à 3 %, l'anémie est extrême ou cachectique.

Dans la chloro-anémie, l'oxyhémoglobine se montraient à un taux faible, de 4,5 à 9,5 mais dans les phases d'amélioration, ou d'atténuation, les chlorotiques peuvent présenter 10, 11 et jusqu'à 12 % enfin 13 % lorsque la guérison semble obtenue, ainsi que je l'ai montré dans un travail sur les modifications de l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine chez les chlorotiques et les anémiques (*Société de Biologie*, 26 novembre 1887).

Les *hémorrhagies* n'amènent de changements importants que si les pertes de sang sont très abondantes et répétées. Chez deux femmes qui

avaient eu des hémorrhagies considérables à la suite de l'accouchement, j'ai constaté un abaissement de l'oxyhémoglobine à 4,5 %, le même chiffre dans deux cas de métrorrhagie par fibromes.

Les hémorrhagies modérées ont une action moindre : ainsi, à la suite d'hémoptysie, j'ai noté dans deux cas 9 et 11,5 %. Une épistaxis abondante a abaissé l'oxyhémoglobine, à 9,5 % et deux jours après, la quantité atteignait 11,5 %. Le fait de la rénovation rapide à la suite d'hémorrhagie est d'ailleurs établi depuis longtemps et a été maintes fois constaté expérimentalement et cliniquement.

La *pléthore* est rarement observée dans les grandes villes, surtout si l'on ne considère comme exagérés que les chiffres de 14,5 à 15 % d'oxyhémoglobine. Il faut tenir compte de l'état habituel de l'individu : ainsi j'ai vu plusieurs fois à l'âge de la ménopause les troubles congestifs coïncider avec les chiffres de 13 à 14 %. J'ai observé chez une jeune femme aménorrhéique, jusqu'à 15 % d'oxyhémoglobine, à la suite de plusieurs mois sans règles. Chez un avoué de Paris, avec 14 %, j'ai observé des troubles attribuables à la pléthore.

Parmi les *maladies infectieuses aiguës la fiè-*

vre typhoïde est l'une des plus communes et des plus graves. L'étude des variations de l'oxyhémoglobine dans cette fièvre a été faite très complètement par M. le Dr Baudouin et par moi, sur 11 malades dont 7 ont été observés à l'Hôtel-Dieu dans le service de M. le professeur Sée. Les conclusions qui en ont été présentées à l'Académie des Sciences se résument ainsi qu'il suit :

En général, dans la fièvre typhoïde, la *quantité d'oxyhémoglobine diminue* dès le huitième jour et quelquefois dès le quatrième tombe à 9. 8. 7 %, s'y maintient pendant les périodes de début et d'état, puis remonte à 8, 9, 11 et 12 % dans la convalescence. Les différences d'un jour à l'autre peuvent être de à 1 %, exceptionnellement de 2 %. On peut trouver le même chiffre pendant plusieurs jours consécutifs.

En général, la convalescence est annoncée par l'augmentation de la quantité d'oxyhémoglobine qui atteint 9 à 10 %.

Les améliorations surviennent brusquement, s'accentuent rapidement à mesure que le malade se nourrit et se relève, mais il y a abaissement au moindre écart de régime, à la moindre reprise de la fièvre, ou lorsqu'il survient des complications. C'est ainsi que la *diarrhée* diminue la quantité d'oxyhémoglobine mais les *manifes-*

tations pulmonaires ont une action plus prononcée, en imprimant à cette quantité d'oxyhémoglobine des oscillations bien plus considérables.

Tuberculose. — Les manifestations de l'infection par le bacille de la tuberculose présentent les variations les plus grandes dans leur marche, comme dans leur siège ; néanmoins, il m'a été possible, par l'étude de 58 malades, d'établir des conclusions générales publiées dans les *Comptes rendus du Congrès pour l'étude de la tuberculose en* 1891, p. 632, et qui peuvent se résumer ainsi qu'il suit :

Dans la phtisie pulmonaire la quantité d'oxyhémoglobine a varié entre 11 et 5 %. En général, la diminution de l'oxyhémoglobine est en rapport avec le degré de la phtisie, la gravité des lésions, les complications d'hémoptysie ; elle est plus prononcée s'il y a un état de chloro-anémie antérieur à l'infection tuberculeuse.

C'est dans la tuberculose osseuse que j'ai rencontré les quantités d'oxyhémoglobine les plus faibles. En effet, chez une petite fille de 4 ans atteinte de coxalgie avec suppurations multiples, j'ai observé des oscillations entre 3,2, 3,7 et 4 %. Le maximum, en deux années, a été de 4,3 passagèrement et je ne connais pas de fait analogue de prolongation de l'existence pendant plusieurs années avec une si faible quantité d'oxyhémoglobine.

La scrofulo-tuberculose ganglionnaire a présenté une diminution avec 8 à 11 %.

La tuberculose du testicule et de l'épididyme a donné les mêmes chiffres.

Dans les tuberculoses cutanées (chez 9 malades atteints de lupus considérés comme tuberculeux, et qui s'étaient soumis au traitement par la « tuberculine de Koch », la quantité d'oxyhémoglobine était très rapprochée de la normale avant les injections, car les manifestations cutanées de la tuberculose, le lupus, ne s'accompagnent pas nécessairement de diminution de l'oxyhémoglobine ; au contraire, au moment des poussées congestives habituelles dans le processus de ces lésions et en particulier dans les poussées congestives dues à l'inoculation de tuberculine, la quantité d'oxyhémoglobine a souvent augmenté de un à deux [%.

Il est d'ailleurs à remarquer qu'il y a habituellement une concordance entre l'augmentation ou la diminution du poids des tuberculeux avec les variations en plus ou en moins de l'oxyhémoglobine, circonstance très importante au point de vue de l'étude des effets des diverses médications. Pour apprécier celles-ci il faut, en outre, tenir compte de l'activité des échanges (voir p. 185).

Le *cancer* est un exemple d'affection diathésique qui se manifeste par la production d'une tumeur maligne soit isolée, soit de productions multiples se généralisant ou récidivant, et se

terminant par l'état cachectique ; or, nous verrons (Chap. VII, p. 183) l'importance de l'analyse spectroscopique et de la détermination de la durée de la réduction du sang chez les cancéreux dans les diverses phases. Dès maintenant nous signalons ici que, en dehors même des hémorrhagies, il y a habituellement chez ces malades une diminution de l'oxyhémoglobine dont il est utile de tenir compte pour le pronostic et pour l'indication opératoire.

Sur 14 malades atteints de cancer observés par Porge, Lejard et moi-même, les proportions sont les suivantes :

Cancer utérin (avec métrorrhagies ou cachexie cancéreuse (Porge)

3 cas : 6,3, 6, 7,5, 9 %

Carcinomes utérins sans hémorrhagies (Porge)

4 cas : 11, 11,5, 12, 12 %

Épithélioma utérin (Lejard)

5 % puis 9 % après traitement à Salies

Cancer de l'estomac

Hénocque . . . . . 1 cas : 6,5 puis 9,5 %
Porge . . . . . 1 cas : 7 %

Cancer du sein, avec récidive : 3,5 % (Porge)
Squirrhe, récidive sans hémorrhagies : 11,5 % (Porge)
Squirrhe du sein, deux récidives : 10 % (Hénocque).

Diabète. — Parmi les états constitutionnels morbides je citerai comme exemple les observations de diabète [1] dans lesquelles j'ai analysé le sang, et aussi l'urine. Sur 72 analyses de sang faites sur 10 diabétiques dont la plupart ont été observés pendant plusieurs années, j'ai trouvé que le plus souvent la quantité d'oxyhémoglobine est voisine de la normale.

Les quantités d'oxyhémoglobine ne sont pas en rapport direct avec la quantité de sucre ; en effet, chez M. D... (Obs. IV) j'ai trouvé le chiffre le plus élevé d'oxyhémoglobine 14,5 ce qui dépasse la normale, alors qu'il urinait par jour plusieurs litres contenant 50 grammes de sucre, chez M. G... (Obs. VI) qui a produit jusqu'à 3 livres de sucre par semaine, avec albuminurie, l'oxyhémoglobine est maintenue plusieurs années entre 12 et 14 %. Il en est de même chez M. M... (Obs. IX) qui présente 12 à 13 % avec

---

(1) Hénocque. — *De la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de la réduction de cette substance chez les diabétiques.* Archives de Physiologie norm. et path., n° 1, janvier 1889.

60 grammes de sucre par litre, et 11 % avec 12 grammes de sucre.

En résumé, la glycosurie ne diminue pas notablement la quantité d'oxyhémoglobine, elle tendrait même à augmenter celle-ci, surtout chez les diabétiques gras et arthritiques et fortement nourris par le régime azoté. Lorsqu'il y a des troubles nerveux et des complications digestives ou autres intercurrentes, la diminution d'oxyhémoglobine n'est pas nécessairement en rapport avec le degré de glycosurie ; elle répond plutôt à l'état général des diverses fonctions.

Myxœdème. — La quantité d'oxyhémoglobine a été étudiée dans cette affection par un de mes élèves le Dr Paul Masoin, de Louvain. Elle est abaissée dans le cours de la maladie et longtemps après pendant la convalescence. Chez les animaux privés de la glande thyroïde, par extirpation, la quantité d'oxyhémoglobine est également diminuée, elle est au minimum au moment des actes convulsifs, mais cet abaissement ne correspond pas à une diminution du nombre des globules rouges. (*Acad. Roy de médec. de Belgique*, janvier 1895 et *Comptes-rendus de la Société de Biologie*, 2 février et 23 mars 1895).

16. Influence des agents thérapeutiques. — Au point de vue de leur action sur la richesse du sang, on peut diviser les médications et les agents thérapeutiques en deux groupes

principaux : 1° ceux qui augmentent la quantité d'oxyhémoglobine ; 2° ceux qui diminuent la quantité d'oxyhémoglobine.

Leur influence pour les uns et les autres s'effectue soit par une action directe sur les globules sanguins, soit par une action sur les organes et la fonction hématopoiétique, soit enfin indirectement par leur influence sur le système nerveux, plus particulièrement sur l'ensemble des centres nerveux trophiques présidant aux diverses fonctions de nutrition.

Nous devons nous contenter de quelques exemples de ces divers groupes.

a) Médicaments et médications augmentant la quantité d'oxyhémoglobine. — Toutes les médications toniques ont pour conséquence d'augmenter la quantité d'oxyhémoglobine, et c'est ainsi que tous les exercices en plein air, lorsqu'ils ne sont pas excessifs et ne produisent pas le surmenage, la gymnastique, l'escrime, la marche, la course, le lawn-tennis, la paume, la natation, l'usage des rames, l'équitation agissent indirectement sur la quantité d'oxyhémoglobine, en régularisant et en activant l'hématose pulmonaire et les échanges entre le sang et les tissus, et la peau principalement, enfin, tous les phénomènes de la nutrition et de la formation

du sang (hématopoièse). D'ailleurs, ainsi qu'on peut le voir chez certains anémiques, chez les habitants des villes surmenés, le simple repos au grand air, à la campagne, en d'autres termes, les vacances avec l'absence de préoccupations, tels sont les moyens qui suffisent bien souvent à ramener la richesse en oxyhémoglobine à son état normal.

Les frictions, l'hydrothérapie, l'électrothérapie, sont des moyens plus actifs.

Les inhalations d'air comprimé, ou chargé de médicaments divers, tels que les vapeurs de térébenthine, agissent aussi sur l'hématose pulmonaire. L'influence des inhalations d'air ozoné est encore discutée. D'une part, M. d'Arsonval a constaté que les inhalations d'ozone obtenu par des machines électriques statiques déterminent chez les animaux une diminution de la capacité respiratoire du sang avec production de méthémoglobine, résultant des vapeurs nitreuses que l'ozone forme avec l'azote de l'air. D'autre part, l'augmentation de la quantité d'oxyhémoglobine par les aspirations d'air traversant des effluves d'ozone, a été notée dans les observations nombreuses de MM. D. Labbé, Derecq, Lagrange, sur des tuberculeux et des anémiques à l'hôpital de la Charité, chez le Dr Desnos ; à l'hospice

des enfants tuberculeux d'Ormesson et à Saint-Raphaël.

On pourra consulter les neuf observations que M. Porge rapporte dans sa thèse et qui montrent une augmentation de 1, 1, 1,5, 2,5, 3, 4, 4 soit 2 % en moyenne chez les tuberculeux traités par les inhalations d'ozone. Parmi les médications thermales qui augmentent la quantité d'oxyhémoglobine, l'une des plus actives est celle de Salies de Béarn (eau chlorurée sodique et bromo-iodurée), ainsi qu'il résulte des nombreuses observations que j'y ai prises et auxquelles se sont ajoutées celles de Lejard (1). Quelle que soit la forme de la médiation, douches, bains plus ou moins concentrés employés à Salies, on peut dire que l'augmentation de l'oxyhémoglobine y est la règle.

Lafon (2) procédant suivant ma méthode a constaté que le traitement thermal à La Bourboule élève la quantité d'oxyhémoglobine chez les chlorotiques.

---

(1) Hénocque. — *De l'influence des médications thermales sur l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine et sur la richesse du sang en oxyhémoglobine.* Société de Biologie, 19 novembre 1887.

(2) Lafon. — *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 18 février 1895.

Dans la première semaine du séjour au bord de la mer, cette augmentation se présente mais elle ne persiste pas toujours si le séjour est prolongé et surtout si l'on multiplie les bains de mer. *Parmi les agents thérapeutiques* auxquels on attribue une action directe sur la richesse des globules rouges en oxyhémoglobine, et par conséquent en fer, doivent figurer les préparations martiales ou ferrugineuses. Ce n'est pas le lieu de résoudre ici la question de savoir si le fer est directement assimilé, fournissant ainsi au sang la quantité de fer qui lui manque, ou bien si la médication martiale favorise l'hématopoièse, c'est à-dire la formation et la multiplication des globules rouges qui renferment tout le fer du sang ; mais nous devons citer quelques exemples de la puissance et de la rapidité d'action des sels de fer, le protochlorure en particulier.

Parmi un grand nombre de faits très démonstratifs à cet égard, que j'ai observés j'en citerai quelques-uns à titre d'exemple.

A. D..., (obs. n° 1 001), présente en février 8,5 % d'oxyhémoglobine ; elle est soumise au traitement par le protochlorure de fer et la noix vomique, en avril la quantité d'oxyhémoglobine est de 10 % et en octobre elle atteint 11,5 %.

M. D..., chloro-anémie (obs. n° 999), même traitement avec interruption en mars. En janvier 6 %, février 7,5, avril 5,5 %, juillet 11,5 %.

Dur., chloro-anémie (obs., n° 1 088), 23 janv. 1889, 6 %, février 1890, 13 %.

L. L..., anémie de croissance, 14 janvier, 7 %.3 février, 11 %.

La puissance d'action du fer est augmentée si on lui associe les toniques généraux tels que le quinquina, les excitants du système nerveux, comme la strychnine, la noix vomique. Un des exemples les plus remarquables que j'aie rencontrés par cette médication combinée est celui d'un médecin, le Dr J. (Observ. 638), qui, à la suite de surmenage et de chagrins, était brusquement anémié au point de n'avoir que 9,3 % et qui, en huit jours de médication martiale avec extrait de quinquina à forte dose, atteignit 11 %.

b) Les *médicaments qui diminuent la quantité d'oxyhémoglobine* sont fort nombreux, laissant de côté les substances toxiques qui agissent directement sur le sang, en détruisant les globules, comme les chlorates, les nitrites, les gaz toxiques, acide carbonique, oxyde de carbone, dont il sera traité au chapitre suivant, nous signalerons quelques types :

Dans le groupe des agents dits antithermiques

et nervins, j'ai principalement étudié l'antipyrine, l'acétanilide, l'exalgine, le sulfonal. Employés à doses relativement peu élevées, mais absorbés pendant plusieurs jours, ils produisent une diminution plus ou moins accentuée, en rapport d'ailleurs avec les phénomènes de cyanose qu'ils déterminent.

L'acétanilide a produit chez des épileptiques un abaissement de 12 à 8,5 %, de 11 à 8 %. Huit jours après cessation du traitement, la quantité était remontée au chiffre du début.

L'iodure de potassium n'abaisse que très lentement la quantité d'oxyhémoglobine. Chez les emphysémateux, certains cardiaques, cette propriété est utilisée pour régulariser l'hématose, chez ces malades, l'oxyhémoglobine s'abaissant de 14 ou 13 % à 12 ou 11,5 %, l'hématose pulmonaire est facilitée, ce qui démontre qu'on peut obtenir des effets très variables de certains médicaments sur l'oxyhémoglobine suivant l'état pathologique auquel ils s'adressent. La médication alcaline en est un exemple, s'il est vrai qu'avec de fortes doses d'alcalins (bicarbonate de soude, sels de potasse) on peut obtenir une diminution de l'oxyhémoglobine, il n'en est pas moins certain que, dans la cure alcaline (ainsi

que le démontrent les recherches des Drs Tripet, Salle, Loillier et moi-même, faites à l'hôpital de Vichy), on pourrait établir comme règle que si les indications du traitement sont bien déterminées, l'augmentation de l'oxyhémoglobine est constante, une diminution notable serait l'exception. Or, nous avons surtout examiné des malades atteints d'affections du foie, de la rate et de l'estomac, de fièvres intermittentes du Tonkin, de Cochinchine et d'Afrique.

Tous ces résultats rejettent bien loin le préjugé des médecins qui craignaient la cachexie alcaline, l'anémie alcaline, même par les eaux de Vichy.

Cet exposé succinct suffit à indiquer l'importante de l'hématoscopie dans ses applications au diagnostic des maladies et à la constatation des effets de la thérapeutique.

17. De la quantité d'oxyhémoglobine chez les animaux. — La quantité d'oxyhémoglobine varie chez les divers animaux.

Sang du singe. — J'ai noté 14, 13, 10, 10,5, chez des macaques et des singes chinois (1887), et depuis 9 à 11,5 et 12 chez un macaque tuberculeux, 9 à 9,5 chez deux macaques tuberculeux, 7 % chez un sajou tuberculeux, 10 % et 9 % chez un singe nègre ou drille, 9,5 chez une autre femelle drille, 11,5 chez un singe

patas. Ces douze animaux étaient tuberculeux et sont morts en quelques jours ou un mois au plus.

Sang du chien. — 25 chiens ont été analysés par la méthode hématoscopique, chez 22, la quantité d'oxyhémoglobine a été de 14 à 14.5 %; chez un, 13 % et chez 2, après pertes abondantes, 7 et 9.

Otto sur 16 chiens analysés par la méthode spectrophotométrique a trouvé 12 à 15,98 %.

L'on remarquera que la moyenne normale est plus élevée chez le chien que chez l'homme, car elle est de 14.5 et, dans l'état de santé, elle peut dépasser ce chiffre.

Le *sang du bœuf*, d'après Preyer et Subbotin, contient de 8,5 à 10,42 d'oxyhémoglobine.

Preyer a observé dans le *sang du porc* 14,36 %.

Chez le *lapin*, la quantité est fort variable suivant l'habitat et la nourriture, en général, ceux que nous observons dans les grandes villes sont relativement anémiques (Subbotin, Otto, Hénocque), 7, 8, 9 à 12 %. Le chiffre 12 appartient aux lapins bien nourris, les lapins noirs en particulier, j'ai cependant trouvé 13 % chez des lapins élevés à la campagne.

Sang des cobayes. — La quantité de 14 %

d'oxyhémoglobine peut être considérée comme la normale du sang artériel défibriné du cobaye bien portant, de sorte que ce sang peut servir de type pour les démonstrations hématoscopiques. On observera exceptionnellement 14,5 °/₀ et même 15 °/₀. J'ai constaté la proportion de 14 °/₀ même quelques heures après la naissance. Le chiffre de 13 °/₀ est souvent observé, et chez les cobayes anémiés le taux de l'oxyhémoglobine descend à 11 et même 9.

Sur les *pigeons* vulgaires du marché de Paris, j'ai constaté le plus souvent 11,5 °/₀ ou 11 °/₀, quelquefois seulement 9,3 à 9 °/₀.

Chez les *lézards*, les variations sont très grandes suivant l'époque de l'observation. Ainsi chez les lézards gris encore dans le sommeil de l'hibernation au 27 mars, la quantité d'oxyhémoglobine était de 7 °/₀. Chez un lézard vert, au mois d'août, examiné au moment de la capture, la proportion était de 13 °/₀, chez d'autres lézards en captivité, anémiés, les quantités ont varié de 6 à 4,5, 3 et même 2 °/₀.

Chez la *grenouille* on trouve, en général, des quantités faibles, l'oxyhémoglobine étant mélangée d'hémoglobine réduite, j'ai pu noter 8 à 10 °/₀.

Je ferai les mêmes observations pour les *ba-*

traciens urodèles, les *salamandres*, où la proportion est encore moindre ; chez les *axolotls* j'ai trouvé des quantités de 6 à 10 %, enfin chez les *poissons*, la quantité d'oxyhémoglobine est également faible, 6 à 8 % si l'on tient compte du mélange du sang veineux et du sang artériel qui résulte du mode de circulation chez ces animaux.

Parmi les *invertébrés*, on peut retrouver l'hémoglobine dans le sang ou mieux les hémolymphes d'un grand nombre d'annélides tels que l'hirudo, la néphelis, la capitella, l'arénicole des pêcheurs, la glycera, la nereis, le lombric, le chloromi et le sipunculus, la polia sanguisabia. Les échinodermes, certains mollusques (*planorbis corneus*) renferment aussi de l'hémoglobine.

Parmi les crustacés, on retrouve les réactions de l'hémoglobine chez certains phyllopodes, l'apus productus, l'apus cancriforme, le branchipus, les daphnies et les cypris (P. Regnard et R. Blanchard).

Enfin, parmi les insectes, les larves de certains diptères (*chironomus plumosus*), appelées vers rouges, ou vers de vase, par les pêcheurs, renferment une quantité très notable d'hémoglobine contenue dans l'hémolymphe sous forme d'émul-

sion. Ces larves, que l'on se procure très facilement, conviennent fort bien pour étudier les modifications de l'hémoglobine sous l'influence de divers agents chimiques, ce sont en quelque sorte « de véritables petits sacs vivants renfermant de l'hémoglobine ».

CHAPITRE V

—

DÉRIVÉS DE L'HÉMOGLOBINE

18. Rôle de l'Oxyhémoglobine. — Le rôle de l'oxyhémoglobine est essentiellement lié à la respiration, soit dans les tissus, soit dans les poumons, c'est l'hémoglobine contenue dans les globules rouges qui transporte et distribue dans tout l'organisme la réserve d'oxygène qu'elle emprunte à l'air pour l'abandonner aux tissus, 1 gramme d'hémoglobine absorbe en moyenne $1c^3,52$ d'oxygène, il en résulte que l'on peut se rendre compte de cette réserve contenue dans le sang. En effet, le sang représente chez l'homme vigoureux le $\frac{1}{13}$ de son poids, et le sang présente 14 % d'oxyhémoglobine, mais comme il y a dans la masse totale du sang environ $\frac{1}{3}$ d'hémoglobine réduite et $\frac{2}{3}$ d'oxyhémoglobine, il en résulte que la quantité totale d'oxyhémoglobine est indi-

quée par l'équation

$$\frac{60\,000 \times 14 \times 2}{13 \times 100 \times 3} = \frac{1\,680\,000}{3\,900} = 450 \text{ grammes,}$$

or, 450 grammes d'oxyhémoglobine constituent 645 centimètres cubes d'oxygène ($1^{gr}021$).

Telle est la réserve, mais à chaque systole ou contraction du cœur 180 grammes de sang traversent le poumon et se chargent de nouveau d'oxygène, ce qui représente un passage de 18 000 kilogs de sang par jour à travers les poumons ; l'oxyhémoglobine fournit donc aux éléments de l'organisme 516 000 centimètres cubes d'oxygène, soit 744 grammes d'oxygène !

Ces chiffres sont approximatifs, mais il font bien concevoir l'activité de l'hématose et l'importance qu'il y a à en pouvoir apprécier toutes les variations physiologiques ou pathologiques.

Rappelons en quelques mots le mécanisme de la distribution, de la consommation et du renouvellement de l'oxygène qui est entièrement contenu dans les globules rouges.

Le sang chassé dans l'aorte par la contraction ou systole du ventricule gauche, contient le maximum d'oxyhémoglobine (il a une couleur vermeille, rouge), il porte les globules dans les divisions de l'arbre artériel, jusqu'aux plus fins

capillaires, et c'est dans le réseau capillaire général que le sang, les globules rouges et l'oxyhémoglobine, mis en rapport avec les tissus et leurs éléments divers constituent le « milieu interne » de la respiration des tissus, c'est-à-dire des échanges gazeux entre le sang et les tissus. C'est là que l'oxyhémoglobine, abandonnant son oxygène pour entretenir les phénomènes d'oxygénation des tissus, se transforme en hémoglobine réduite tandis que le sérum du sang, la globuline même, se chargent d'acide carbonique et d'autres produits de l'oxydation des éléments des tissus. Ainsi que l'a démontré Gauthier, ces phénomènes ne constituent que les transformations aérobiques de la partie extérieure de la cellule animale, différentes des transformations anaérobiques du protoplasma, néanmoins ce sont les fonctions les plus élevées de l'organisme, puisqu'en effet les organes qui consomment la plus grande quantité de cet oxygène apporté par l'oxyhémoglobine sont les muscles, et la substance nerveuse grise.

Le sang ayant traversé les capillaires est ramené au cœur par les veines, il a une couleur rouge ponceau ; vu à travers la peau, il présente une teinte bleuâtre due à la présence de l'hémoglobine réduite, c'est-à-dire l'hémoglobine

privée d'oxygène. Il contient encore, il est vrai, une quantité très notable d'oxyhémoglobine qui n'a pas été réduite, car ce n'est que dans l'asphyxie que la réduction est complète.

Le sang veineux aboutit au cœur droit, et à chaque systole du ventricule droit 180 grammes environ de ce sang pénètrent dans les poumons par l'artère pulmonaire, dont les ramifications forment un réseau capillaire des plus riches autour des alvéoles pulmonaires, qui sont remplies d'air à chaque respiration, c'est là que l'hémoglobine se charge à nouveau d'oxygène, le sang redevenu artériel est de nouveau lancé dans la circulation générale...

Mais tout travail comporte l'usure de l'instrument, toute fonction nécessite une rénovation des éléments, des organites qui l'entretiennent, et il en est ainsi pour le sang dont la provision serait vite épuisée par les modifications globulaires, sans parler des causes nombreuses accidentelles ou physiologiques, de perte des globules rouges. Il est intéressant, pour compléter l'histoire de l'oxyhémoglobine, d'en étudier rapidement l'origine, et aussi les transformations diverses.

19. Cycle de l'Hémoglobine. — L'œuf des oiseaux renferme du fer, le vitellus ou jaune contient des substances pigmentées dont l'une

contient du fer ; et la globuline du vitellus semble en partie unie à une nucléine ferrugineuse appelée par Bunge *hématogène*, pour indiquer qu'elle est l'origine de l'hémoglobine. L'albumine ou blanc d'œuf contient aussi du fer en proportion moindre. Le fer se retrouve encore dans l'œuf des poissons qui est le plus analogue à celui des mammifères. L'œuf contient donc les éléments nécessaires à la formation de l'hémoglobine, et, en effet, celle-ci apparaît chez le poulet dans les seize premières heures de l'incubation [1].

A ce moment, elle est contenue dans les îlots de Wolf qui apparaissent dans l'aire opaque en dehors de l'embryon ou plus exactement en dehors du mésoderme au sein de l'entoderme, et qui sont constitués par des noyaux englobés dans le protoplasma, où ils sont colorés par l'hémoglobine. Désormais la formation des globules rouges est liée à celle des vaisseaux, c'est la période embryonnaire pendant laquelle chez tous les vertébrés les globules rouges sont constitués par un corps cellulaire, par un noyau et par de l'hémoglobine. Le sang reste embryonnaire chez tous les ovipares.

---

(1) Renaut. — *Traité d'Histologie pratique*, p. 125.

Dès la deuxième semaine chez les mammifères le sang renferme des globules à noyaux et des globules rouges définitifs, on peut les observer dans les bourgeons vasculaires et leurs prolongements anastomotiques, c'est-à-dire partout dans le tissu connectif, mais surtout dans les organes hématopoiétiques, tels que les îlots sanguins du foie, la rate, la moelle des os ; leurs diverses phases de développement les a fait désigner sous les noms d'hématoblastes, de prothémoblastes, d'érythroblastes.

Enfin, l'on distingue une quatrième période dite vaso-formatrice qui, commençant bien avant la naissance, se continue longtemps après.

Les cellules vaso-formatrices décrites par Ranvier dans les taches laiteuses de l'épiploon, sont d'abord pleines, elles renferment un protoplasma coloré, puis des globules rouges, ceux-ci pouvant atteindre leur forme définitive, alors même que les cellules vasoformatrices ne sont pas encore en communication avec les vaisseaux préexistants.

En somme, à la naissance, chez le mammifère, le sang en circulation est constitué, et toute l'hémoglobine est contenue dans les globules rouges ou hématies qui ne sont pas de véritables cellules proprement dites, mais bien

plutôt un globule protoplasmique formé d'une substance albuminoïde, la globuline, unie à la matière colorante ou hémoglobine ; or après le *premier cri*, l'hémoglobine a reçu l'influence de l'air extérieur et sa fonction est complètement établie.

Il serait fort intéressant de suivre pendant toute la vie du globule rouge, c'est-à-dire pendant la durée de l'individualisation de l'hémoglobine dans cet organite, les transformations qu'elle peut éprouver, mais nous ne connaissons nettement que son rôle physiologique, quant au renouvellement de la réserve d'oxyhémoglobine, nous savons qu'il est lié à la production des globules rouges, et cette question est encore l'objet de controverses qui nous entraîneraient trop loin de la spectrocopie.

Il n'en est pas de même des transformations de l'hémoglobine parce que la chimie et la spectroscopie nous ont donné des notions d'une haute valeur que nous devons résumer, sans anticiper sur l'histoire des dérivés de l'hémoglobine.

Le mode d'élimination du fer est un moyen indirect de reconnaître la désassimilation de l'hémoglobine, or, l'on sait que le fer est éliminé par la bile, traversant l'intestin, il se retrouve dans les matières fécales, il est aussi éliminé par

les cheveux, les poils, mais non pas par l'urine. D'autre part, les organes hématopoiétiques, le foie, la rate, etc., renferment du fer en quantité plus grande que les autres organes, mais cette prédominance de l'élimination du fer par la bile, en rapport avec l'opinion histologique que le foie est le centre principal de la destruction des globules rouges, est expliquée chimiquement et spectroscopiquement.

En effet, l'on sait que l'un des dérivés de l'hématine peut être transformé en bilirubine, matière colorante de la bile. Gauthier en donne l'équation suivante :

$$\underbrace{C^{34}H^{14}Az^4FeO^5}_{\text{Hématine}} + H^2O + O =$$
$$= \underbrace{C^{32}H^{36}Az^4O^6}_{\text{Bilirubine}} + FeO + C^2H^4O^2.$$

La bilirubine, ou matière colorante biliaire, résulte donc d'un dédoublement avec oxydation de la matière colorante du sang en passant par l'hématine qui, elle-même, paraît dériver d'un déquadruplement de l'hémoglobine en albumine hématine, urée et acides gras.

Or, la plus grande partie de la bilirubine est évacuée avec les matières fécales, une autre passe dans l'intestin à l'état d'hydrobilirubine qui est elle-même en partie résorbée, s'oxyde

dans le sang et constitue le pigment colorant de l'urine, l'urobiline.

Cette théorie d'ordre chimique est d'ailleurs confirmée par des faits physiologiques, en effet, le poids des globules rouges humides s'élève dans le foie, et le poids du fer diminue, il y a désassimilation. Toutes les causes qui, expérimentalement, amènent la destruction des globules rouges, produisent une augmentation de la quantité de bilirubine sécrétée par le foie ; telles sont les injections intraveineuses de sels biliaires, d'eau en abondance, de sang d'un animal d'espèce différente.

En somme, transformation de l'hémoglobine en bilirubine, urobiline, urée, acides gras, telles sont les phases les plus positives et les plus importantes de la matière colorante du sang.

Le tableau suivant montre les relations chimiques qui existent entre les différents dérivés de l'hémoglobine :

DÉRIVÉS DE L'HÉMOGLOBINE

L'Oxyhémoglobine

Privée d'oxygène par les respirations interstitielles, par la putréfaction ou l'action du vide produit : l'*Hémoglobine réduite*.

Par oxydation ou transformation spontanée elle produit : la *Méthémoglobine*.

Par l'action des acides et des alcalis elle produit : l'*Hématine* (acide ou alcaline).

Traitée par les acides forts et concentrés, qui en séparent le fer, elle produit : l'*Hématoporphyrine*.

Par la privation de lumière et d'oxygène dans les tissus vivants elle produit un pigment : la *Mélanine*.

Par l'action de l'hydrogène naissant elle produit : l'*Hydrobilirubine*.

L'Hémoglobine réduite

Par agitation avec l'oxygène, elle produit : l'*Oxyhémoglobine*.

Par les acides et les alcalis, elle produit : l'*Hématine* réduite ou *Hémochromogène*.

La Méthémoglobine

Sous l'action des réducteurs ou de la putréfaction, elle produit : l'*Hémoglobine réduite*.

L'Hématine alcaline ou acide

Traitée par les agents réducteurs, elle produit : l'*Hémochromogène* (ou *Hématine réduite*).

Traitée par les acides concentrés, elle produit : l'*Hématoporphyrine*.

Traitée par l'hydrogène naissant, elle produit : l'*Hydrobilirubine* ou *Urobiline*.

Traitée par le chlorure de sodium et l'acide acétique, elle produit : le *chlorhydrate d'hémine*.

20. Dérivés de l'Oxyhémoglobine. *Hémoglobine réduite.* — C'est la matière colorante du sang privée d'oxygène, elle donne au sang vei-

neux sa coloration pourpre foncée, d'où le nom de *purple cruorine* que lui a donné Stokes.

Elle existe dans le sang veineux, mais pendant la vie elle y est toujours mélangée avec une quantité presque égale d'oxyhémoglobine, néanmoins si on l'extrait au moyen d'une piqûre pratiquée à la pulpe d'un doigt qui a été ligaturé à sa base pendant quelques minutes, et qui est en état de cyanose, on la trouve dans le sang sous forme d'hémoglobine réduite sans mélange appréciable d'oxyhémoglobine.

On l'observe aussi après la mort dans le sang des veines et des cavités cardiaques. Elle est contenue dans les globules rouges comme l'oxyhémoglobine, et elle représente dans l'économie le résultat direct de la réduction de l'oxyhémoglobine par la respiration interne, c'est-à-dire par les échanges gazeux entre le sang et les éléments des tissus. L'hémoglobine réduite est l'oxyhémoglobine privée d'oxygène, ainsi que le démontrent les procédés employés pour l'isoler ou la préparer.

En effet, tous les agents qui séparent l'oxygène de l'oxyhémoglobine peuvent servir de base à un procédé de préparation de l'hémoglobine réduite.

C'est ainsi que Stokes l'a obtenue en faisant réagir sur du sang défibriné dilué dans l'eau, quelques gouttes

d'un liquide qui porte son nom et est composé d'une solution de sulfate de protoxyde de fer additionnée d'acide tartrique et neutralisée par l'ammoniaque.

Le procédé que j'emploie de préférence est l'addition de quelques gouttes d'une solution de sulfhydrate de soude au dixième, dans du sang pur ou dilué. On peut employer aussi le sulfhydrate d'ammoniaque, ou des solutions tartro-ammoniacales de chlorure d'étain.

Enfin l'hémoglobine réduite se produit d'elle-même dans du sang ou des solutions concentrées de sang, qu'on laisse se putréfier au contact de l'air ; dans ce cas, les bacilles de la putréfaction qui sont aérobies ou avides d'oxygène absorbent l'oxygène de l'oxyhémoglobine, c'est-à-dire agissent comme agents réducteurs.

Le procédé qui est à la fois le plus correct et le plus démonstratif du mode de production de l'hémoglobine réduite consiste à soumettre des cristaux d'oxyhémoglobine cristallisée à l'action du vide ; dans la pompe à mercure, en présence de l'eau, les cristaux abandonnant leur oxygène se transforment en hémoglobine réduite.

L'hémoglobine réduite cristallise difficilement parce qu'elle est plus soluble dans l'eau que l'oxyhémoglobine, cependant ses cristaux ont pu être étudiés, ils sont fort analogues à ceux de l'oxyhémoglobine, ils diffèrent suivant les animaux observés.

L'hémoglobine réduite est très avide d'oxygène. 1 gramme d'hémoglobine peut absorber 1,67 d'oxygène, ce qui explique pourquoi le sang veineux se trans-

forme rapidement en sang artériel dans les poumons, et pourquoi le sang veineux d'une saignée de coloration foncée devient plus rouge à l'air, et redevient artériel si on l'agite en présence de l'air ou de l'oxygène.

L'hémoglobine réduite peut absorber d'autres gaz, tels que l'oxyde de carbone, le bioxyde d'azote, le cyanogène, avec lesquels elle forme des combinaisons qui seront étudiées plus loin (V. *Dérivés toxiques de l'Hémoglobine*) p. 151.

Caractères Spectroscopiques. — L'hémoglobine est caractérisée à l'analyse spectroscopique par une bande unique, large, un peu diffuse et moins obscure vers les bords qu'au centre, cette bande occupe les $^3/_4$ de l'espace DE et dépasse un peu la ligne D vers C (Stoke, 1864).

Dans une solution à 1 % d'hémoglobine réduite, examinée sous une épaisseur de 1 centimètre, la bande caractéristique occupe en longueur d'onde l'espace situé entre 572 et 542 millionimètres (λ) Vierordt.

Si l'on examine dans l'hématoscope du sang réduit qui, préalablement, contenait avant la réduction 14 % d'oxyhémoglobine, la bande caractéristique de l'hémoglobine réduite s'étend entre 590 et 540 millionimètres, le centre de la bande correspond à 560 millionimètres, lorsqu'on examine la couche de sang placée sous le

n° 14 de l'échelle hématospectroscopique, c'est-à-dire sous une épaisseur de 70 millièmes de millimètres.

Pour bien apprécier les variations de l'absorption de la lumière suivant le degré de concentration des solutions, il est préférable d'employer l'examen dans l'hématoscope, qui montre soit dans le sens longitudinal, soit dans le sens transversal, les phénomènes d'absorption en rapport avec l'épaisseur de la couche de sang réduit ou d'hémoglobine réduite, ce qui représente comme pour l'analyse de l'oxyhémoglobine (voir *Hématoscope Technique*, p. 70), les phénomènes correspondants de solutions plus ou moins concentrées.

Remplissons un hématoscope gradué avec quelques gouttes de sang réduit, et examinons-le avec le spectroscope, depuis l'épaisseur 0, jusqu'à l'épaisseur 300 millièmes de millimètre, soit de 0 à 60 de l'échelle millimétrique. Si le sang contenait 14 % d'oxyhémoglobine avant la réduction, voici ce que nous observons :

Vers 3 millimètres (15 millièmes de millimètre d'épaisseur), nous voyons apparaître une très légère bande obscure entre D et E, à une plus grande épaisseur cette bande s'élargit, mais elle laisse toujours voir le rouge et une partie

du vert, et vers la division, 1,4 ou 70 millièmes de millimètre d'épaisseur, elle atteint son maxi-

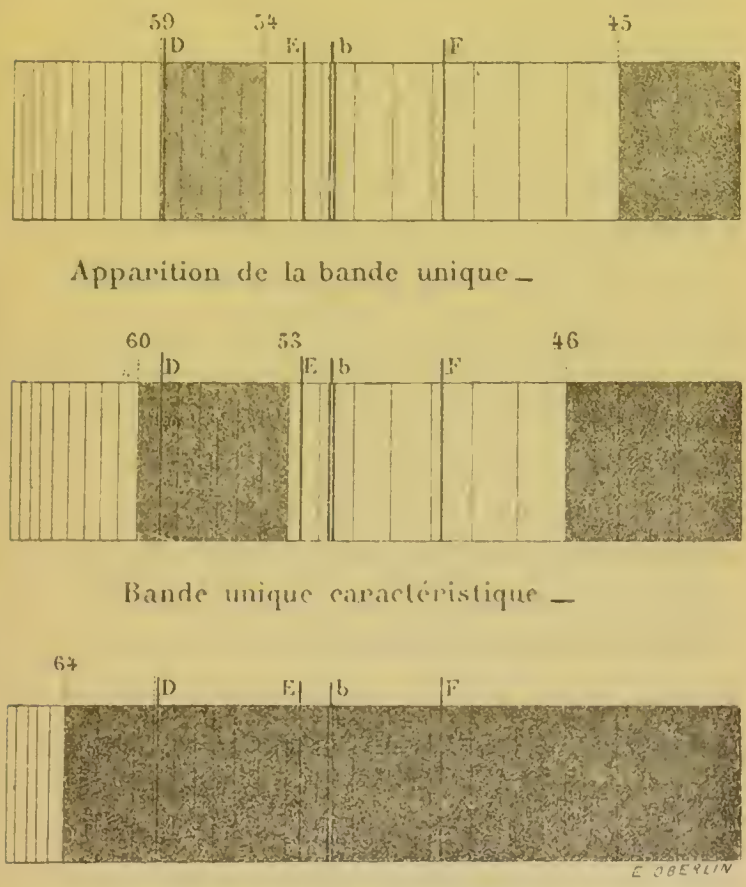


Fig. 16. — Hémoglobine réduite, du sang de l'homme en contenant 11 %, examinée à des épaisseurs variables dans l'hématoscope avec le spectroscope.

mum de netteté ; à une plus grande épaisseur les rayons verts disparaissent, on ne voit plus

que les rayons bleus et une partie des rayons rouges, enfin la plage bleue disparaît à l'épaisseur de 200 micras où l'on ne perçoit plus que les rayons rouges près de C.

La production de ces phénomènes est progressive, et peut être étudiée en examinant l'hématoscope avec la fente du spectroscope perpendiculaire, puis horizontale. C'est ainsi qu'on peut distinguer quatre phases principales, ou quatre phénomènes caractéristiques, l'apparition de la bande, le maximum d'intensité, la disparition du vert, la disparition du bleu, phases correspondant avec celles que présente l'oxyhémoglobine ou le sang oxygéné.

L'analyse qualitative de l'hémoglobine réduite est rendue très simple par la recherche de ces caractères spectroscopiques, il est même possible de reconnaître le mélange d'hémoglobine réduite et d'oxyhémoglobine, dans le sang pur ou dilué, parce que si l'on opère sur des épaisseurs faibles ou des solutions étendues, ou bien qu'on examine directement une veine mise à nue, on voit alors un spectre composé (spectre du sang veineux) dans lequel on perçoit les deux bandes de l'oxyhémoglobine, se détachant sur un espace sombre au lieu d'être séparées par une plage verte franchement colorée ; il y a en somme su-

perposition de la bande unique de l'hémoglobine réduite et des deux bandes de l'oxyhémoglobine.

Il est utile surtout dans les analyses médico-légales, de constater la réoxygénation de l'hémoglobine réduite, en agitant le sang ou les solutions avec de l'air ou de l'oxygène, on voit alors l'hémoglobine réduite se transformer en oxyhémoglobine.

L'*Analyse quantitative* de l'hémoglobine réduite a été rarement faite, jusqu'à présent elle n'a pu être pratiquée exactement que par la spectrophotométrie ; néanmoins les coefficients d'absorption de cette substance colorante ont été déterminés, et c'est ainsi qu'Otto et Hufner ont pu établir les rapports entre l'oxyhémoglobine et l'hémoglobine réduite dans le sang veineux et le sang artériel.

Ils ont trouvé les chiffres suivants chez le chien :

Artère crurale

Oxyhémoglobine : 14.310 %; Hémoglobine réduite : 1,022 %

Veine crurale

Oxyhémoglobine : 9.955 %; Hémoglobine réduite : 7,155 %;

Dosage hématoscopique. — J'ai recherché si

la bande unique de l'hémoglobine réduite ne pourrait pas constituer un moyen plus simple de doser cette substance ; malheureusement il est bien difficile d'apprécier avec le spectroscope à vision directe le point précis du maximum de la bande unique, on obtient une approximation plus grande avec la mesure spectrométrique de cette bande au moyen de l'échelle latérale (v. *Hématospectroscope*). Mais lorsqu'on peut disposer d'une certaine quantité de sang (par l'emploi des ventouses, de la saignée, ou dans les expériences de physiologie), on peut procéder indirectement au dosage de l'hémoglobine réduite en réoxygénant le sang par le battage à l'air, et dosant l'oxyhémoglobine ; on rapporte alors le poids de l'hémoglobine réduite au poids de l'oxyhémoglobine.

Si, par exemple, le sang réoxygéné donne 14 % d'oxyhémoglobine, on notera que la quantité d'hémoglobine réduite est égale à 14 % d'oxyhémoglobine, et l'on peut considérer les quantités d'hémoglobine réduite et d'oxyhémoglobine comme à peu près équivalentes ; l'on concluera donc que le sang contenait 14 % d'hémoglobine réduite.

Si le sang ou la solution contient un mélange d'oxyhémoglobine ou d'hémoglobine réduite

comme dans le sang veineux, le sang des capillaires, lorsqu'il y a cyanose, l'on peut encore doser à part l'oxyhémoglobine, puis ensuite réoxygéner le sang, et doser à nouveau ; la différence des chiffres obtenus donnera la quantité d'hémoglobine réduite, c'est ce que j'ai pu faire sur des malades auxquels on avait pratiqué une saignée et en particulier dans des cas de cyanose.

Le *rôle de l'hémoglobine réduite* est lié aux fonctions des globules rouges, car cette substance reste toujours unie à ces organites. L'hémoglobine réduite n'est qu'un état transitoire de la matière colorante du sang, elle provient de la désoxygénation de l'oxyhémoglobine par les éléments des tissus et des humeurs. Cette réduction se fait surtout dans les capillaires où environ la moitié de l'oxyhémoglobine se réduit ; le sang artériel devient sang veineux, mais celui-ci se charge de nouveau d'oxygène dans le poumon, il en revient artérialisé, au cœur gauche, c'est-à-dire chargé d'oxyhémoglobine. La faible quantité d'hémoglobine réduite observée dans les artères peut être considérée comme représentant la petite quantité réduite par le sang lui-même, dont le sérum et les globules blancs constituent eux-mêmes une humeur qui participe aux combus-

tions internes. La paroi des vaisseaux doit avoir par ses éléments endothéliaux, une certaine part dans cette réduction.

L'avidité de l'hémoglobine réduite pour l'oxygène explique comment nous pouvons résister longtemps à l'asphyxie, même dans un air chargé d'acide carbonique, à condition qu'il contienne une certaine quantité d'oxygène. J'ai pu, avec Brown-Séquard, respirer impunément et longtemps un mélange d'air et d'acide carbonique et l'on sait que l'homme ou les animaux en état d'asphyxie incomplète sont facilement ramenés à la vie par l'insufflation d'air dans les voies respiratoires. Stroganoff, observant avec le spectroscope, le sang des veines jugulaires de lapins asphyxiés lentement, a constaté que, jusqu'à la dernière contraction cardiaque, il y a encore de l'oxyhémoglobine dans les veines, j'ai vérifié plusieurs fois ce fait. L'on ne trouve l'hémoglobine entièrement réduite dans le sang qu'après la mort. J'ai pu même, chez une cardiaque mourant d'asphyxie pulmonaire, constater pendant l'agonie la progression constante de l'hémoglobine réduite dans les capillaires, de sorte qu'après Mac-Munn, dont j'ai répété maintes fois les observations, je puis établir cette règle précise que *lorsque le sang extrait des vaisseaux d'un animal ne ren-*

ferme que de l'hémoglobine réduite, la mort est certaine et définitive.

Le spectroscope nous a donc donné un *signe de la mort* de la plus haute importance, d'une simplicité extrême et dont les applications seront multipliées.

J'ai plusieurs fois eu l'occasion de me servir de cette analyse pour constater le moment de la mort, le Dr Tripet l'a également employée, et l'on comprendra facilement l'utilité de cette constatation qui peut être faite à l'aide d'une simple piqûre.

De ce que l'hémoglobine réduite complètement indique la mort définitive, il n'en faudrait pas conclure qu'après la mort on trouve toujours de l'hémoglobine réduite. En effet, il est démontré que, dans la mort subite par syncope, dans la mort par *arrêt des échanges*, telle qu'on l'observe chez les foudroyés, chez certains noyés, dans les traumatismes du bulbe, dans la mort par anesthésie chloroformique, lorsqu'elle se produit aux premières inspirations, dans tous ces cas le sang contient encore de l'oxyhémoglobine, même à l'intérieur des veines-caves et des cavités cardiaques droites. Ce sont là des cas exceptionnels, d'autant plus utiles à connaître qu'il est probable que, dans la léthargie, il doit exister un

état d'arrêt des échanges analogue à celui des animaux hibernants qui conservent le sang rouge, il en est peut-être de même chez les derviches ressuscitants.

Il résulte de ces faits que, dans les cas de mort apparente ou soupçonnée apparente, il est de la plus haute importance de pratiquer l'analyse du sang chez les asphyxiés, les noyés, les gens empoisonnés par les stupéfiants, il faut continuer l'intervention médicatrice (respiration artificielle, tractions sur la langue par la méthode de Laborde), aussi longtemps qu'on trouve encore des traces d'oxyhémoglobine dans le sang des capillaires, car il ne faut jamais perdre de vue l'activité de la puissance de reconstitution de l'oxyhémoglobine par l'hémoglobine réduite, dès que celle-ci est en présence d'oxygène ou de l'air.

L'hémoglobine réduite absorbe facilement les divers gaz, elle se combine avec l'oxyde de carbone, avec les vapeurs d'acide hypoazotique, avec le cyanogène et forme avec ces corps des combinaisons analogues à celles de l'oxyhémoglobine avec ces mêmes gaz.

Méthémoglobine. — Ce produit se forme spontanément par la décomposition de l'oxyhémoglobine en solution exposée à l'air pendant un certain temps. La coloration rouge disparaît

peu à peu et est remplacée par une teinte brun rougeâtre qui rappelle celle du sang traité par le nitrite d'amyle (Gamgee) ou celle des liquides de l'économie contenant du sang épanché (hydrocèles, kystes hématiques, urine hématurique). Hoppe-Seyler, qui le premier l'a décrit en 1865, a donné, à ce dérivé de l'hémoglobine, le nom de méthémoglobine.

La méthémoglobine peut être préparée directement avec l'oxyhémoglobine exposée à l'air en vase clos pendant plusieurs mois (Preyer), mais on l'obtient par un grand nombre de réactions.

C'est ainsi que la plupart des substances oxydantes transforment l'hémoglobine réduite et l'oxyhémoglobine en méthémoglobine : tels sont le permanganate de potasse (Mac Munn), le chlorate de potasse (Marchand), les nitrites (Gamgee, Jolyet, Mac Munn, Hénocque, Hayem), l'iode, l'acide osmique (Marchand), le ferrocyanure de potassium. Cette transformation peut se faire dans l'organisme même, sous l'influence de divers médicaments, ainsi que nous le verrons plus loin.

La méthémoglobine présente des réactions spectrales caractéristiques, très importantes à connaître.

Lorsqu'on examine le sang contenant de la méthémoglobine sous une faible épaisseur (80 à

250 millièmes de millimètre), on aperçoit deux bandes semblables à celles de l'oxyhémoglobine et une troisième bande située entre C et D : par exemple, si les deux bandes β et α occupent les espaces 553 à 555 et 557 à 559 millionimètres, la troisième bande caractéristique de la méthémoglobine occupe l'espace de 605 à 615 millionimètres. En d'autres termes, outre les deux bandes placées dans le jaune et le jaune vert, il y a une troisième bande dans le rouge orangé.

Ces réactions spectroscopiques varient suivant qu'on examine la méthémoglobine dans une solution acide ou une solution alcaline. En solution aqueuse, légèrement acide au papier de tournesol, on observe une bande très nette dans le rouge, entre C et D un peu plus près de C, à partir de D tout le spectre est sombre, mais par la dilution, on voit apparaître une bande très peu foncée entre D et E tout près de D, puis un peu avant E l'intensité lumineuse commence de nouveau à décroître et atteint avant F un minimum limitant une large bande très foncée qui se détache assez bien sur le fond sombre du spectre; vers la raie F, on observe une faible éclaircie bleue, les radiations indigo et violette étant totalement absorbées.

Les solutions de méthémoglobine rendues

alcalines par une goutte de potasse présentent un spectre bien différent. La bande dans le rouge a disparu et à sa place on observe trois bandes, une pâle avant D et deux autres entre D et E, qui pourraient être confondues avec les bandes α et β de l'oxyhémoglobine.

La méthémoglobine est soluble dans l'eau, 100 centimètres cubes d'eau dissolvent 5gr,851 à 0°; elle a été obtenue à l'état cristallin par Hufner et Otto (1883).

Sous l'influence des agents réducteurs (le sulfure d'ammonium, le sulfure de sodium neutralisé, etc.), la méthémoglobine se transforme en hémoglobine réduite et celle-ci peut de nouveau être transformée en oxyhémoglobine ou en méthémoglobine, mais le passage de l'hémoglobine à la méthémoglobine est direct, et l'on n'observe pas la production intermédiaire d'oxyhémoglobine si on se met à l'abri de l'action de l'air.

La nature de la méthémoglobine n'est pas encore précisée, parce que la quantité d'oxygène qu'elle contient, n'a pas été définitivement évaluée; cependant la majorité des auteurs admet que la méthémoglobine renferme moins d'oxygène que l'oxyhémoglobine.

En résumé, la méthémoglobine serait une combinaison de l'hémoglobine avec l'oxygène,

intermédiaire entre l'oxyhémoglobine et l'hémoglobine. Cependant, ces deux substances ne sont pas des combinaisons oxygénées de même ordre, car dans l'oxyhémoglobine une molécule entière d'oxygène est fixée sur une molécule d'hémoglobine contenant un atome de fer, tandis que dans la méthémoglobine, l'oxygène semble porté sur l'atome de fer; cet atome qui se trouve à l'état de minimum dans l'hémoglobine, serait passé au maximum d'oxydation.

La recherche de la méthémoglobine et le dosage de cette substance n'ont été faits, d'une façon précise, qu'au moyen du spectrophotomètre par Huffner, Otto, Külze et par Bertin-Sans. Mais, il ne s'agissait que de solutions de méthémoglobine pure ou mélangée d'oxyhémoglobine. Ces auteurs ont établi les constantes d'absorption de la méthémoglobine acide ou alcaline.

Il n'y a pas de procédé exact de dosage de la méthémoglobine dans le sang pur non dilué, et jusqu'à présent l'on s'est contenté de la constatation de l'existence de ce principe dans le sang, et même, à part quelques cas toxicologiques, on n'a constaté l'existence de la méthémoglobine dans le sang que chez des animaux en expéri-

mentation ou dans le sang après la mort. Il importe néanmoins de signaler les essais tentés dans cette voie.

J'ai le premier montré qu'à l'aide de l'examen spectroscopique du sang déposé dans des godets de porcelaine, on peut déterminer dans les expérimentations le moment où la méthémoglobine apparaît dans le sang, suivre la durée de la transformation, et enfin étudier la période d'élimination (*Société de Biologie*, 22 décembre, 1883). J'ai montré en outre que, si l'on emploie le nitrite d'amyle et le nitrite de sodium, l'élimination commence avec la transformation.

Ainsi que je l'ai établi, les diverses phases de l'intoxication par formation de méthémoglobine, telle qu'on l'obtient chez les animaux en injectant du nitrite de sodium ou du nitrite d'amyle sous la peau ou dans le péritoine, peuvent être représentées sous forme de courbes qui mettent en évidence ce fait, que la production de la méthémoglobine commence avec l'absorption du médicament, qu'elle continue pendant un certain temps, et que la disparition est d'abord graduelle pendant quelques minutes, puis s'accélère brusquement. Lorsqu'on emploie des doses successives et faibles, les phénomènes se prolongent, l'altération du sang n'arrive

pas à son maximum d'intensité, il y a des oscillations qui peuvent durer plusieurs heures. L'élimination se fait par les poumons, par les sécrétions salivaires et rénales, suivant le mode d'administration. Le sang est altéré en masse, si l'absorption est rapide et considérable, mais, si l'absorption est progressive, la production de méthémoglobine peut être réduite à un minimum tel que l'acte respiratoire suffise à l'oxygénation de l'hémoglobine, et même à la transformation de la méthémoglobine. Il en a été ainsi dans une observation de Jach de Vienne, qui a trouvé, chez un malade, des traces de méthémoglobine, en employant l'examen spectroscopique avec mon hématoscope de verre.

Les recherches de Gamgee, Mac Munn, Rabuteau, ne contredisent en rien ces résultats, et celles de Jolyet et Regnard les confirment; ces auteurs ont trouvé que, dans l'action du nitrite d'amyle sur le sang, la capacité respiratoire diminue de façon à ne représenter que $\frac{1}{5}$ de la capacité avant l'expérience. Toutes proportions gardées, ce serait comme si la quantité d'oxyhémoglobine diminuait de 15 à 3 %. Hayem évalue à 10 % de la matière colorante du sang la quantité de méthémoglobine nécessaire pour obtenir la troisième bande caracté-

ristique (*De la méthémoglobine*, Revue des Cours scientifiques, 5 juin 1886, p. 718).

Des expériences plus récentes m'ont amené à cette conclusion, que, la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, par les diverses substances toxiques ou médicamenteuses, est précédée d'une diminution de la quantité d'oxyhémoglobine. C'est ainsi que, dans une expérience faite avec M. Laborde et M. Weill 5 grammes d'acétanilide ayant été injectés dans l'estomac d'un chien, la quantité d'oxyhémoglobine descendit de 11 à 8 et 6 % en l'espace de deux heures et la bande caractéristique de la méthémoglobine n'apparut qu'à ce moment, cette réaction spectroscopique se prononça ultérieurement de plus en plus (*Société de Biologie*, 23 juillet 1887).

Dans tous les cas où l'on voudra vérifier la présence de la méthémoglobine dans un liquide, dans l'urine par exemple, il sera nécessaire de tenir compte de l'analogie du spectre de la méthémoglobine et de celui de l'hématine en solution acide, et, en conséquence, rechercher si l'action des agents réducteurs, le sulfure de sodium, par exemple, transforme la méthémoglobine en hémoglobine réduite, reconnaissable à ses réactions spectroscopiques, tandis que les

solutions d'hématine acide, ne se transforment jamais en hémoglobine ; dans ces conditions, on peut aussi, simplement ajouter à la solution de méthémoglobine ou au sang, quelques gouttes d'ammoniaque ou de solution concentrée de potasse. on obtient ainsi le spectre de méthémoglobine alcaline très distinct de l'hématine alcaline.

Ces diverses réactions ont été étudiées avec grand soin par Bertin-Sans (*Études sur la méthémoglobine*, J. B. Baillière, Paris, 1888).

Les *conditions de production* de la méthémoglobine sont toujours d'origine toxique, la liste même des poisons, ou des médicaments qui peuvent la produire, est fort nombreuse ; mais il est nécessaire, ainsi que l'a fait Hayem, de les diviser en deux classes : 1° Les toxiques agissant directement sur les globules rouges. Ce sont, parmi les plus importants, les vapeurs nitreuses et le nitrite d'amyle en inhalations. C'est en effet les cas d'empoisonnement par les vapeurs nitreuses chez des ouvriers employés à la fabrication de l'acide sulfurique que Gamgee, puis Marchand, Rabuteau, ont observé la production de la méthémoglobine dans le sang.

L'acétanilide, la kairine, le nitrite de sodium absorbés par injections sous cutanées, ou par

voie stomacale, agissent également sur les globules rouges sans les détruire. En effet, j'ai montré que, si on agite à l'air le sang d'un cobaye intoxiqué par le nitrite de sodium, et dont l'oxyhémoglobine a été transformée en méthémoglobine, on peut, par cette action de l'oxygène de l'air, reproduire l'oxyhémoglobine. Hayem a fait une observation analogue avec le sang ayant subi l'action du nitrite d'amyle.

Ces faits sont très importants parce qu'ils nous font savoir que l'élimination de la méthémoglobine, ou sa transformation, peut se faire dans l'économie tant que les globules rouges ne sont pas détruits, et que l'hématose se continue si l'action n'a pas été prolongée, c'est pourquoi l'on peut utiliser à doses médicamenteuses des médicaments antithermiques ou antispasmodiques, tels que le nitrite d'amyle, l'acétanilide ou d'autres substances dites antipyrétiques et antithermiques ou analgésiques, qui ne semblent pas produire de méthémoglobine, lorsqu'elles sont employées à petites doses, mais qui peuvent amener cette transformation de l'oxyhémoglobine avec des doses exagérées et toxiques.

Enfin, cette possibilité de l'élimination de la méthémoglobine est une indication thérapeutique par elle-même, c'est-à-dire que, dans les

cas d'empoisonnement par les vapeurs nitreuses les nitrites et autres substances analogues, il y a utilité à employer la respiration artificielle, l'insufflation d'oxygène, dès le début des accidents, et d'en prolonger l'emploi avec persévérance.

Quant aux poisons de la seconde classe, qui ont une action destructive sur les globules, ils déterminent la dissolution de la matière colorante des globules rouges dans le sérum en même temps que la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine. On comprend la gravité des troubles apportés à l'hématose, par la suppression des globules, mais à un moindre degré d'intoxication, la méthémoglobine peut encore être éliminée par les reins, et on la retrouve dans l'urine. Tels sont l'acide pyrogallique, le permanganate de potasse et l'acide chromique, les chlorates de potasse et de soude, et peut-être le nitrobenzol. Il importe de noter que certains de ces composés, tels que le nitrite de sodium, agissent différemment sur le sang, quand ils sont ingérés par l'estomac ou injectés dans les tissus, dans quels cas ils ne détruisent pas les globules comme lorsqu'ils sont injectés directement dans le sang; d'autres, comme la nitrobenzine, l'hydrogène arsénié,

produiraient à la fois la transformation de l'hé-

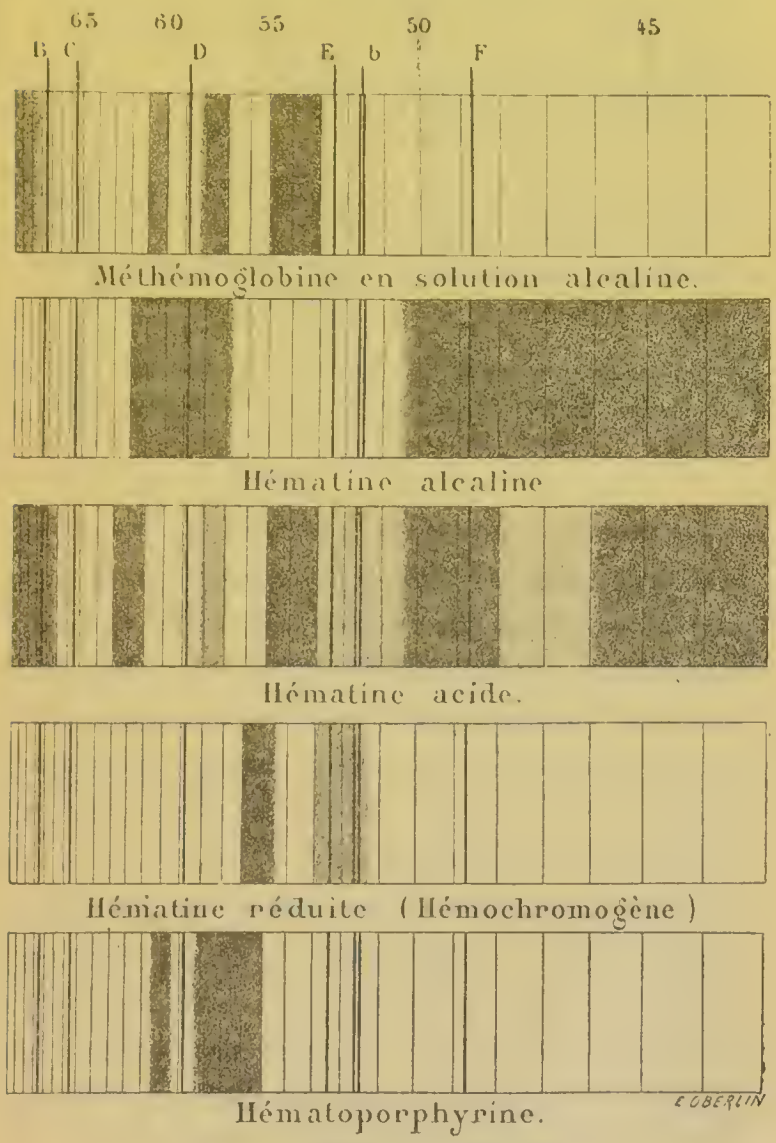


Fig. 17. — Dérivés de l'hémoglobine.

moglobine en méthémoglobine et en hématine acide. Ces notions suffisent à démontrer l'importance des applications du spectroscope à la toxihémie et à la médecine légale.

22. Les hématines.

L'oxyhémoglobine traitée par les acides se transforme en hématine acide (oxyhématine).	L'hémoglobine réduite traitée par les alcalins se transforme en hématine réduite (hémochromogène).

Les hématines acide ou réduite traitées par les acides concentrés se transforment en hématine privée de fer (hématoporphyrine).

Ce tableau montre les relations des trois formes principales de l'hématine qui sont produites par les réactions chimiques et qui peuvent se rencontrer accidentellement et sous des influences pathogéniques dans l'économie, par exemple dans les anciens foyers hémorrhagiques, dans les kystes, certaines tumeurs, et plus souvent dans l'urine.

L'*hématine acide* ou *oxyhématine* (syn. hématine brune, hématosine), $C^{34}H^{34}Az^{4}FeO^{5}$, se produit par l'action de l'eau chaude, des acides et même des alcalis à chaud sur l'oxyhémoglobine, laquelle substance est détriplée en albumine, en hématine (pigment ferrugineux) et

en acides gras (acide acétique et formique) plus, de l'urée et de la sarcine (Gauthier).

Isolée et séchée, elle se présente sous la forme d'une poudre brune à reflets bleuâtres, insoluble dans l'eau, l'alcool, le chloroforme, mais soluble dans l'alcool acidifié ou alcalinisé, et dans l'ammoniaque et les alcalis étendus. Elle s'unit à certains acides et alcalis, en combinaisons cristallisables; telle est l'*hémine* ou *chlorhydrate d'hématine* dont l'étude microscopique est fort importante en médecine légale. Les réducteurs alcalins la transforment en hématine réduite, et les acides concentrés en hématine privée de fer (hématoporphyrine).

Le spectre de l'oxyhématine en solutions acides est caractérisé par l'existence de cinq bandes, dont deux dans le rouge, une plus faible dans le jaune, et deux plus larges dans le vert et le bleu, celles-ci se réunissent par une obscurité de la plage intermédiaire. Ce spectre serait difficile à distinguer de celui de la méthémoglobine, mais l'addition d'un agent réducteur (sulfure d'ammonium, potasse), transforme ce spectre en celui de l'hématine alcaline qui diffère entièrement du spectre de l'hémoglobine réduite, obtenue par l'action des mêmes réactifs sur la méthémoglobine, cette double

réaction devient alors caractéristique, elle est un nouvel exemple de la nécessité d'associer à la spectroscopie, des épreuves chimiques précises.

L'*hématine réduite* ou *hémochromogène* (syn. Hématine alcaline, hématine rouge) se forme directement par l'action des réducteurs sur l'hématine acide, mais elle se produit aussi par transformation de l'hémoglobine réduite, sous l'influence des acides ou des alcalins; il y a alors détriplement de cette substance en albumine, hémochromogène et acides gras.

L'hématine réduite peut absorber l'oxygène à l'état gazeux et se transformer en oxyhématine, les acides forts la privent de fer et la transforment en hématoporphyrine sous l'influence de l'hydrogène naissant, elle se transforme en hydrobilirubine, matière colorante biliaire, origine de l'urobiline ou matière colorante de l'urine.

Le spectre d'absorption de l'hémochromogène est caractérisé par une première bande noire entre D et E plus rapprochée de E que de D et une seconde bande un peu moins obscure mais un peu plus large commençant à gauche de E et s'étendant au delà de *b* dans le vert (*fig.* 17).

L'*hémato porphyrine* ou *hématine privée de fer* ($C^{34}H^{34}Az^4O^5$) est préparée en faisant agir de

l'acide sulfurique concentré sur de l'hématine acide, le fer passe à l'état de sulfate et après neutralisation par la potasse, l'hématoporphyrine est précipitée.

Isolée et desséchée, c'est une poudre noire, violacée, très soluble dans les acides minéraux, les alcalis et leurs carbonates.

Le spectre de l'hématoporphyrine en solution acide est très caractéristique, il présente à gauche de D une première bande étroite et peu colorée, et une seconde bande occupant le tiers moyen de la plage entre E et D, elles sont séparées par un espace jaune presqu'aussi large que la première bande (*fig.* 17).

L'hématoporphyrine a été rencontrée dans l'urine à l'état pathologique unie à l'urobiline, constituant un état symptomatique de l'urine, désigné sous le nom d'urohémato-porphyrinurie.

23. Dérivés toxicohémiques de l'hémoglobine. *Hémoglobine oxycarbonée, etc., etc.* — L'hémoglobine peut former des composés définis avec différents gaz, et lorsque cette combinaison se fait dans l'économie, le sang est devenu impropre à la fonction respiratoire, il y a toxicohémie.

La plus importante de toutes ces combinaisons est l'*hémoglobine oxycarbonée* qui se forme

lorsqu'on traite les solutions d'hémoglobine par l'oxyde de carbone, elle se produit dans le sang des animaux asphyxiés par ce gaz. Claude Bernard, le premier a démontré que l'oxyde de carbone chasse l'oxygène contenu dans les globules rouges et cette découverte a été l'origine de méthodes très précises d'analyse des gaz du sang, basées sur ce fait que l'oxyde de carbone remplace, dans l'oxyhémoglobine, l'oxygène, molécule par molécule. Cette combinaison a été l'objet d'un grand nombre de travaux parce que l'intoxication plus ou moins rapide, l'asphyxie par l'oxyde de carbone se présentent dans des conditions les plus variées, chez les mineurs à l'état chronique et dans les explosions de grisou [1], chez les victimes d'incendie de théâtre, etc., dans tous ces cas, l'étude du sang présente un intérêt des plus graves au point de vue toxicologique.

L'étude spectroscopique du sang oxycarboné donne des résultats absolument caractéristiques que l'on peut retrouver dans ce liquide conservé pendant plusieurs mois et même plusieurs années. Le spectre de l'hémoglobine oxycarboné

---

[1] A. Hénocque. — *Note sur l'étude hématoscopique du sang dans l'intoxication par l'oxyde de carbone. Applications médico-légales.* Comptes-rendus de la Société de Biologie, 7 mai 1887.

présente de grandes ressemblances avec celui de l'oxyhémoglobine, mais il est facile de l'en distinguer, parce que l'hémoglobine oxycarbonée est très stable et résiste à la putréfaction.

L'examen du sang oxycarboné, avec l'hématospectroscope fait reconnaître, suivant l'épaisseur à laquelle on observe, des variations dans l'aspect des bandes d'absorption qui ressemblent à celles que présente le sang oxygéné dans les mêmes conditions d'observation ; c'est ainsi que l'on voit d'abord apparaître une faible bande à l'épaisseur de 20 millièmes de millimètre, ou micras, puis deux bandes estompées à l'épaisseur de 40 micras ces bandes sont nettes et également obscures, laissant entre elles un espace intermédiaire vert-jaune, bien net, à l'épaisseur de 75 micras ; puis elles s'étendent, deviennent plus foncées ; elle se rapprochent et se réunissent ou se confondent en une large bande unique, à l'épaisseur de 200 micras ; enfin, la portion du vert et du bleu située à droite de cette large bande disparaît complètement à l'épaisseur de 300 micras, et l'on n'aperçoit plus que la partie rouge, orangée et jaune du spectre, c'est-à-dire qu'à la plus grande épaisseur du sang oxycarboné, dans l'hématoscope, on voit la partie du spectre située à gauche de 585 λ.

Ces phénomènes spectroscopiques diffèrent de ceux que présente l'hémoglobine oxygénée par ce fait général que *le bord gauche de la première bande est toujours situé à droite de la raie D qu'elle laisse apercevoir nettement, c'est-à-dire que le bord gauche de la première bande ne dépasse pas 586 λ.*

La figure suivante représente l'une des phases de cette étude hématoscopique.

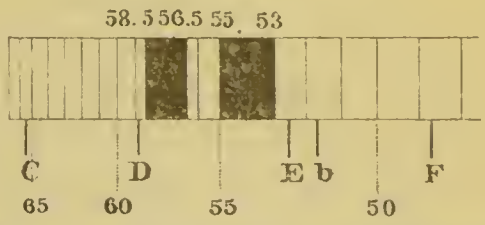


Fig. 18. — Phénomène dans le sang oxycarboné.

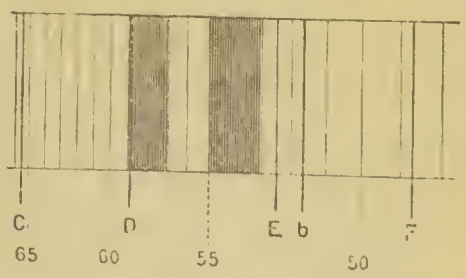


Fig. 19. — Phénomène dans le sang oxygéné.

En résumé, pour l'hémoglobine oxycarbonée, la première bande est séparée de la raie D par un certain espace, égal à environ 5 λ ; or, cet espace et cette position de la première bande se

retrouvent dans toute l'étendue de l'hématoscope, ainsi que nous l'avons dit, et ce fait est *caractéristique* à ce point que l'examen hématospectroscopique du sang à la lumière solaire fait reconnaître du premier coup d'œil la modification de l'hémoglobine produite par l'oxyde de carbone.

A ces caractères spectroscopiques, il est indispensable dans les analyses médico-légales d'ajouter une réaction chimique caractéristique, à savoir que dans le sang oxycarboné traité par un agent réducteur tel que le sulfure d'ammonium, l'hémoglobine oxycarbonée ne se réduit pas. Elle conserve ses caractères et ne se transformant pas en hémoglobine réduite, elle ne présente pas la bande unique indiquant la réduction.

L'hémoglobine, en se combinant avec le bioxyde d'azote, donne un composé qui a quelques analogies avec l'hémoglobine oxycarbonée en ce sens qu'il est isomorphe avec l'oxyhémoglobine, ces deux substances renfermant un volume égal d'oxygène ou de bioxyde d'azote.

L'*hémoglobine bioxyazotée* est plus stable encore que l'hémoglobine oxycarbonée, le bioxyde d'azote pouvant à volume égal déplacer l'oxyde de carbone. L'hémoglobine se combine encore avec l'acide carbonique, l'acétiline, le cyanogène.

CHAPITRE VI

—

ÉTUDE SPECTROSCOPIQUE DU SANG DANS LES TISSUS VIVANTS

L'étude du sang dans les tissus vivants a été faite pour la première fois par Hoppe Seyler, qui, examinant par transparence l'oreille de l'homme ou la lumière diffuse transmise par la paume de la main, y reconnut le spectre de l'oxyhémoglobine; après lui, Stroganoff, Fumouze, Vierordt, ont observé que, non seulement on pouvait reconnaître le spectre du sang à la surface cutanée de l'homme, ou dans la patte de la grenouille, mais encore apercevoir la réduction de l'oxyhémoglobine dans le sang des animaux asphyxiés, ou simplement dans les doigts de la main dans lesquels la circulation était interrompue par une ligature.

Ces observations n'offraient alors qu'un intérêt de curiosité scientifique, mais de 1883 à 1885 après avoir répété toutes les recherches antérieures, en y ajoutant des procédés rigoureusement exacts pour les multiplier et les varier j'ai pu constituer une *Méthode Nouvelle d'Hématoscopie* avec laquelle il est maintenant possible de constater dans les tissus vivants, de divers animaux, la présence de l'oxyhémoglobine, d'en apprécier la transformation en hémoglobine réduite et enfin de déterminer par l'examen spectroscopique des tissus vivants, non seulement la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang, mais encore la durée de la réduction de cette matière colorante dans les tissus, arrivant ainsi à mesurer l'activité des échanges entre le sang et les tissus [1].

Pour examiner le sang à la surface des téguments ou dans les viscères, les vaisseaux mis à nu, le cœur de la grenouille, l'oreille du lapin, la plante du pied des cobayes, le simple spectroscope à vision directe peut suffire.

En effet, si chez l'homme on examine à la lu-

---

(1) *L'Hématoscopie, méthode nouvelle d'analyse du sang, basé sur l'emploi du Spectroscope.* Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, t. CIII, p. 817, n° 18, 2 novembre 1886.

mière diffuse la surface de la paume de la main, l'oreille, les téguments du visage, la conjonctive palpébrale, les lèvres, on aperçoit sous forme d'une bande perpendiculaire légèrement obscure, en quelque sorte estompée, placée entre le rouge et le vert, plus exactement à droite de la raie D, dans la position de la bande α de l'oxyhémoglobine. On peut même reconnaître la seconde bande β de l'oxyhémoglobine située à droite de la précédente dans le vert et près de la raie E. Une certaine habitude de l'usage du spectroscope est nécessaire pour voir ce phénomène d'emblée, mais lorsqu'on a eu la démonstration, la constatation en devient facile.

Technique des procédés de l'auteur. — L'expérience m'a montré que les hésitations du début tiennent à deux causes principales : l'appréciation de l'intensité de la bande et la disposition de l'éclairage.

Sur le premier point, il importe de savoir qu'au premier abord on aperçoit seulement la première bande α de l'oxyhémoglobine, et que celle-ci est elle-même une sorte de fine bande grise, estompée, mais fixe dans sa position à droite de la raie D.

Sur le second, il est nécessaire de s'habituer à reconnaître cette bande ; pour cela, on procèdera ainsi qu'il suit :

Se placer en face d'une fenêtre bien éclairée, mais non directement par un rayon de soleil, de préférence en face d'un nuage blanc, d'un mur blanc, ou même un ciel un peu couvert.

La main gauche est en pronation, formant un angle de 45°, avec la face postérieure de l'avant-bras, et elle reçoit directement la lumière ; on place alors sur la face palmaire des doigts une carte de visite blanche ou un morceau de carton blanc, et, fléchissant très légèrement les doigts, cette carte se trouve maintenue naturellement entre le grand pli palmaire et les doigts. On examine alors avec le spectroscope la carte blanche et l'on doit voir le spectre solaire et les raies de Frauenhöfer (si l'instrument est bien au point de vision distincte). Cette constatation faite, on examine le creux palmaire immédiatement au-dessous de la carte, et alors la bande de l'oxyhémoglobine apparaît. Par des mouvements alternatifs d'avant en arrière et *vice versâ* du spectroscope, l'on voit successivement le *spectre solaire* et le *spectre cutané avec la bande d'oxyhémoglobine.*

Lorsqu'on a bien vu cette bande, il devient alors très facile de la retrouver à la surface unguéale du pouce, à condition qu'on mettra entre la pulpe du pouce et l'index une carte blanche, et aussi qu'on fléchira bien la phalangette de façon qu'elle reçoive la lumière perpendiculairement à la surface unguéale.

De plus, le spectroscope doit être incliné à 45° sur cette face, et pour les premières recherches, il est pré-

férable d'appuyer le bord du disque inférieur sur la partie moyenne de la phalangette au-dessus de la lunule.

On procèdera de même pour l'examen des parties cutanées non pigmentées des divers animaux domestiques, ou autres, mais, dans tous les cas, on observera avec soin les indications générales suivantes :

1° Il est indispensable de ne jamais pratiquer l'examen spectroscopique sans avoir vérifié si le spectroscope est *au point*, c'est-à-dire si l'on voit nettement les raies de Frauenhöfer, ce qui prouve que la fente est suffisamment étroite, et l'oculaire à la distance nécessaire ; celle-ci varie suivant la distance de vision distincte de l'observateur qui la déterminera facilement et pourra la marquer d'un trait sur le tube du spectroscope.

2° Il faut préférer la lumière diffuse blanche, obtenue par un réflecteur de porcelaine, par le ciel bleu ou un peu couvert, ou même les nuages blancs ou grisâtres, à l'éclairage direct des rayons solaires.

3° Il est nécessaire de toujours se servir du spectre de comparaison donné par la carte blanche.

24. Étude de la réduction de l'oxyhémoglobine à travers l'ongle du pouce. — J'ai choisi le pouce de préférence à tout autre

doigt parce qu'en outre de la facilité d'application instantanée de la ligature, il offre cet avantage de présenter une phalangette facile à isoler et une lunule sous-unguéale plus développée que sur les autres doigts.

L'expérience suivante que j'ai répétée maintes fois et sur des individus différents prouve d'ailleurs qu'il faut tenir grand compte de la quantité de tissus et surtout de tissu osseux qui sépare la ligature, de l'ongle observé. En effet, appliquant une ligature de caoutchouc au poignet, au-dessous des apophyses styloïdes radiale et cubitale, j'ai comparé pour chaque ongle la *durée de la réduction*. Or, j'ai trouvé toujours la durée la moindre au pouce, puis à l'auriculaire, la durée plus grande au médius, et pour l'index et l'annulaire une durée intermédiaire.

Ce fait démontre la relation directe entre la durée de la réduction et la distance qui sépare la ligature de l'ongle, c'est pourquoi il ne faut comparer entre eux que les résultats obtenus sur le pouce.

Si l'on examine avec le spectroscope à vision directe la surface de l'ongle du pouce on reconnaît nettement la première bande de l'oxyhémoglobine, faiblement la seconde ; si l'on applique rapidement une ligature avec un tube de caout-

choue enroulé autour de la phalange du pouce et que l'on continue à observer avec le spectroscope les deux bandes caractéristiques, on voit la seconde bande pâlir rapidement et disparaître en quelques secondes, mais la première bande est encore visible, bien qu'elle soit moins nette ; en trente secondes, elle pâlit, s'amincit, découvrant le jaune assez brusquement : c'est le phénomène du *virage* ; enfin elle disparaît, au bout d'une minute environ, laissant voir le spectre solaire réfléchi par l'ongle ; la réduction est accomplie.

J'appelle *virage* le moment d'apparition du jaune et de la raie D, et *durée de la réduction* le temps qui sépare l'application de la ligature, et la disparition complète de la bande α.

Aussitôt qu'on enlève la ligature, on voit réapparaître cette bande et elle offre même une intensité plus prononcée qu'avant la ligature.

Ces phénomènes étant définis, en voici la signification : la ligature de la phalange interrompt la circulation dans l'extrémité du pouce, et l'on a ainsi isolé dans la région de la phalangette une certaine quantité de sang artériel et par conséquent d'hémoglobine oxygénée ou oxyhémoglobine. Ce sang échange de l'oxygène avec les tissus et devient veineux ; en d'autres termes, l'oxyhémoglobine a abandonné aux tissus l'oxy-

gène qu'elle avait fixé par l'acte respiratoire ; elle est à l'état d'hémoglobine réduite.

Or, celle-ci ne présente pas les bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, elle est en outre trop peu intense pour être vue dans ces conditions d'examen ; c'est pour quoi l'on voit réapparaître le spectre continu au moment où l'oxyhémoglobine est réduite.

On assiste réellement à la consommation de l'oxygène du sang par les tissus, car si l'on examine comme je l'ai fait le sang du pouce avant la ligature et le sang du pouce après la réduction, le premier apparaît coloré en rouge vermeil par l'oxyhémoglobine qu'il contient ; le second est rouge foncé et présente les réactions de l'hémoglobine réduite telle qu'on la trouve dans le sang veineux.

Si l'on prolonge l'examen, par exemple, au delà de 100 secondes en laissant la ligature en place après la disparition de la bande, l'on dépasse le *moment de réduction* et l'on constate de nouveaux phénomènes : la région jaune et jaune verdâtre s'assombrit, et peu à peu il semble que la bande réapparaisse ; mais elle est bien moins intense et plus diffuse, que celle observée au début de l'examen elle s'étend à gauche de D, au-delà même de 560. Or, à ce moment,

qui peut correspondre à 120″, 150″, 180″, on peut confondre cette bande de l'hémoglobine ré-

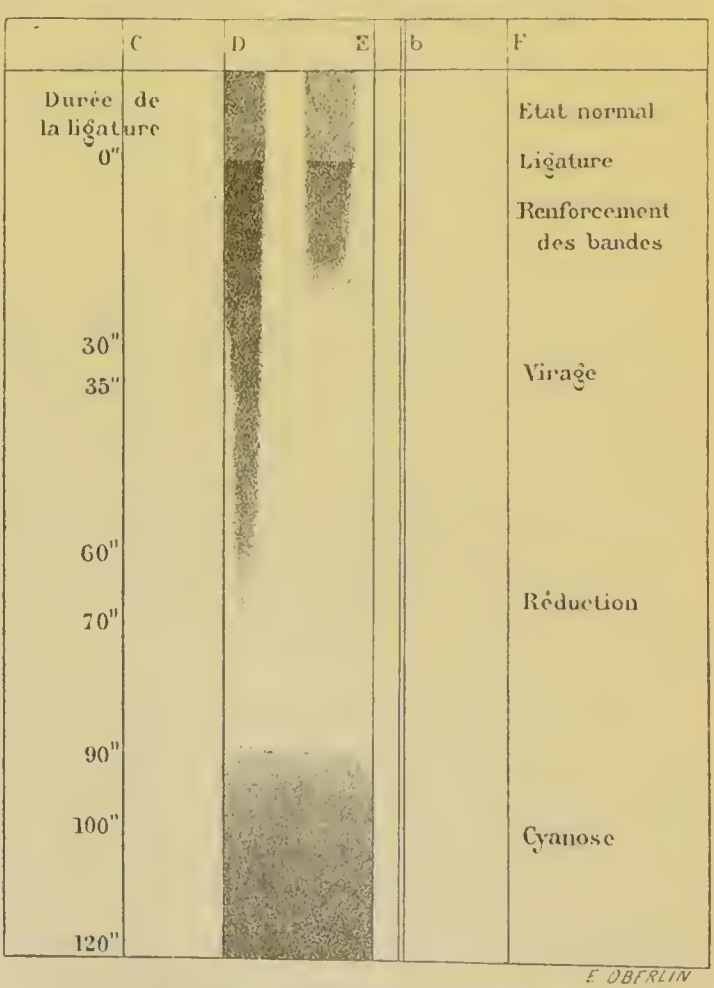


Fig. 20. — Phénomènes de la réduction de l'oxyhémoglobine observés à travers l'ongle du pouce.

duite avec la bande primitive du sang oxygéné, si on ne tient pas compte de sa position et de

sa largeur. Le phénomène s'accentue et atteint 240″, mais en même temps le rouge s'assombrit et il y a obscurité du spectre rouge, s'étendant d'abord à 650 à gauche de C, puis dépassant C jusqu'à 630 ; de plus, toute la région jaune vert est assombrie, et au-delà de E toute la partie est noire. En même temps le sang, qui a l'aspect veineux foncé si on l'extrait dans la période de réduction, a pris une couleur brunâtre laquée ; enfin, la phalange unguéale offre une teinte livide ou cyanosée, d'où le nom de *période de cyanose* sous lequel je la désigne.

La *fig.* 20 représente en diagramme ces diverses phases.

Indications techniques. — Il faut procéder méthodiquement dans l'examen spectroscopique du pouce ; on emploie le spectroscope à vision directe de l'hématospectroscope clinique ; à l'aide d'une montre à secondes, on note l'instant précis de la ligature, et, pour faire celle-ci instantanément, il faut se servir d'un tube en caoutchouc rouge qu'on enroule plusieurs fois autour de la première phalange du pouce ; on examine alors avec le spectroscope, et l'on constate le moment de l'apparition du jaune et enfin la durée de la réduction.

Il est important, dans l'examen spectroscopique de l'ongle, de ne pas se laisser distraire et de ne pas l'interrompre, mais il y a moyen de faire varier les im-

pressions rétiniennes de façon à les renouveler pour ainsi dire ; c'est pourquoi l'on doit examiner, par de légers déplacements du spectroscope, l'ongle en long et en large, puis la lunule et le rebord cutané qui l'entoure : on voit ainsi que la disparition de la bande se fait d'abord dans la lunule, puis un peu plus tard dans l'ongle, mais elle persiste encore pendant quelques secondes à la peau ; or, à un certain moment, le phénomène de réduction est complet dans ces trois régions, et c'est alors qu'on note la durée de réduction ; ces détails semblent bien délicats, mais la pratique s'en acquiert facilement.

Il y a une autre précaution indispensable pour l'examen, c'est de disposer sous le pouce une carte blanche que le sujet tient entre le pouce et l'index, pendant l'examen. Cette carte blanche, ou une simple feuille de papier blanc, sert de réflecteur de la lumière ; elle montre le spectre solaire ; c'est le spectre de comparaison, de sorte qu'en visant avec le spectroscope et alternativement, l'ongle et la carte blanche, on apprécie très nettement la disparition de la bande de l'oxyhémoglobine.

25. Activité de la réduction : Activité des échanges. — La durée de la consommation de l'oxygène dans la phalange du pouce dépend de deux conditions principales ; elle varie suivant la quantité d'oxyhémoglobine à réduire et aussi avec l'énergie des échanges dans les tissus.

On peut dire que la durée de réduction est en rapport avec l'abondance du combustible (l'oxyhémoglobine) et l'activité du foyer (les tissus du pouce).

Elle peut varier entre trente secondes et cent secondes, dans des conditions qui ne sont pas nécessairement pathologiques.

Il faut donc réunir ces deux facteurs : la richesse du sang en oxyhémoglobine et la durée de la réduction, pour arriver à déterminer l'activité des échanges entre le sang et les tissus, ce qu'on peut désigner sous le nom d'*énergie métabolique*.

L'on conçoit facilement qu'il y a un intérêt considérable à étudier les modifications de la durée de la réduction en rapport avec la quantité d'oxyhémoglobine. Pour cela, il suffit de calculer la quantité d'oxyhémoglobine réduite en une seconde, ce qui s'obtient par la formule suivante :

La quantité d'oxyhémoglobine réduite en une seconde est égale au quotient de la quantité $^0/_0$ *constatée dans le sang divisée par le nombre de secondes de la durée.* On établit ainsi des résultats comparables, entre eux, mais il y a mieux à faire, c'est de les ramener à une unité, qui représente la quantité réduite en une seconde à

l'état normal, c'est-à-dire à l'état physiologique moyen.

En d'autres termes, ce qu'il importe de connaître c'est le rapport de l'activité de la réduction observée chez l'individu plus ou moins sain, avec l'activité qu'il devrait présenter à l'état normal, ou encore le rapport de la quantité d'oxyhémoglobine réduite en une seconde chez ce même individu dans un état momentané, avec la quantité qu'il réduirait à l'état normal pour sa richesse en matière colorante du sang.

Or, l'expérience m'a démontré que, chez l'homme vigoureux et bien portant dont le sang contient 14 % d'*oxyhémoglobine*, la durée de réduction est de soixante-dix secondes ; chez les individus dont le sang contient 13 % d'oxyhémoglobine, la durée de réduction est de soixante-cinq secondes. Si l'on admet que la réduction se fait uniformément, on conclura que le premier en une seconde aurait consommé $\frac{14}{70}$ % ; le second $\frac{13}{65}$ %, soit l'un et l'autre 0,2 de la quantité d'oxyhémoglobine du sang. C'est cette quantité qui est prise comme unité d'activité de réduction et une formule très simple permet de calculer l'activité correspondante à des durées de réduction et à des quantités d'oxyhémoglobine déterminées.

L'activité de réduction est égale à

$$\frac{\text{quantité d'oxyhémoglobine}}{\text{durée de réduction}} \times 5,$$

en d'autres termes, l'activité de réduction exprimée en unités d'activité est égale à 5 fois le quotient du chiffre exprimant la quantité d'oxyhémoglobine $^0/_0$ par le chiffre exprimant la durée de la réduction.

Dans la pratique, cette formule peut être simplifiée de la manière suivante : on divise par 2 le quotient de la quantité par la durée et l'on multiplie par 10.

L'activité de réduction ainsi évaluée exprime l'activité des échanges entre le sang et les tissus dans une partie de l'organisme, la phalange du pouce, c'est-à-dire un organe comprenant la peau et son tissu sous-cutané, les vaisseaux sous-épidermiques, en plus du tissu tendineux et un os : la phalangette.

On peut considérer les résultats obtenus comme représentant la plus grande partie des phénomènes d'échanges, et en particulier les phénomènes de la consommation de l'oxygène par les tissus avec les transformations aérobiques des éléments cellulaires, c'est-à-dire l'excrétion d'acide carbonique, durée et de pigments.

CHAPITRE VII

—

VARIATION DE L'ACTIVITÉ DE LA RÉDUCTION DE L'OXYHÉMOGLOBINE

Variations physiologiques. — L'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine se modifie incessamment suivant les moments physiologiques et les influences du milieu. Soumise aux mêmes fluctuations que le pouls, la respiration, la température animale, la production de l'urée, elle subit, comme ces diverses manifestations du fonctionnement de l'organisme, l'action de ces mille causes qui influencent à tous les instants les conditions de notre existence.

A l'état physiologique, il est possible de déterminer les lois de ces variations, puisque les unes reviennent périodiquement régulières comme la série des fonctions nutritives, les autres se pro-

duisant passagèrement suivant certaines conditions de milieu et suivant les exercices qui mettent plus ou moins activement en jeu les masses musculaires et le mécanisme respiratoire, mais obéissant à cette loi générale qu'aux mêmes conditions correspondent des variations analogues.

Les variations diurnes se présentent avec régularité, à l'état physiologique. L'activité de réduction est plus faible le matin, elle atteint son maximum au moment des repas et dans les heures suivantes elle diminue vers six heures et s'abaisse au minimum pendant la nuit.

Le Dr Porge ayant observé un même sujet régulièrement pendant soixante jours a trouvé les moyennes suivantes pour cinq périodes de la journée.

1°	de 8 à 10	heures	du matin	0,63
2°	de 10 à 12	heures	//	0,65
3°	de 1 à 4	heures	du soir	0,76
4°	de 4 à 7	heures	//	0,69
5°	de 7 à 11	heures	//	0,69

Il en a conclu avec raison que l'activité à l'état physiologique, offre une marche cyclique et sensiblement analogue à celle de la température.

Les agents physiques modifient l'activité de la réduction par action locale et par action générale. L'influence du froid et de la chaleur est

très facilement appréciable par l'emploi des bains, des douches, de la réfrigération. Mais les expériences suivantes sont tout à fait démonstratives :

Ayant plongé le pouce dans de la glace pilée, où i est maintenu pendant trente secondes, j'examine l'activité de la réduction, dans la glace, et je la compare à celle qui existait avant le refroidissement. Elle est diminuée de la moitié ou des deux tiers ; j'enlève la ligature, le pouce est laissé à l'air libre à 22° C, j'examine à nouveau l'activité de la réduction, celle-ci est alors trois ou quatre fois plus grande que dans le pouce observé sous la glace. C'est le phénomène de la réaction locale, mais il y a plus : en effet l'activité est également augmentée à un degré moindre il est vrai, dans le pouce de l'autre main qui n'a pas été refroidi.

Il y a donc eu, action locale, puis réaction locale et générale. L'influence des températures élevées ne peut être étudiée que dans des limites plus restreintes, car on peut difficilement maintenir le pouce dans l'eau, dont la température dépasse 53 degrés centigrades, mais pour augmenter la variation de température, j'ai maintenu le pouce dans de l'eau à 10°, pendant une minute avant l'examen et j'ai constaté alors, sous l'influence de l'échauffement à 53°, une

augmentation de l'activité de 0,5 à 0,8, soit de un tiers, pour une différence de 63°.

L'action des bains d'eau douce à 34° et durant 20 à 30 minutes, amène ordinairement une augmentation de l'activité, mais pour les bains médicamenteux, les bains sulfureux, les bains salins, les bains thermaux, arsenicaux, alcalins ou autres, les conditions sont plus complexes, ainsi qu'il résulte de mes observations et de celles de mes élèves.

L'influence des efforts, des exercices plus ou moins violents ou prolongés, est très précise sur l'activité de la réduction, mais elle est fort variable suivant le mode d'exercice, ou la nature des efforts; néanmoins, j'ai pu établir certaines lois générales qui permettent de comprendre la cause de ces variations.

L'exercice violent ou l'exercice modéré longtemps prolongé, agissent sur la respiration, et sur la circulation. D'une part, l'activité de la circulation produite par les contractions musculaires et aussi par la tension artérielle ou cardiaque, d'autre part, la rapidité et l'amplitude des mouvements respiratoires, ont pour conséquence une augmentation de l'activité des échanges constatable par une diminution de la durée de la réduction.

Si l'effort est trop longtemps prolongé, si l'exercice a été violent, l'on constate des troubles dans la circulation et la respiration, qui s'affirment par la sensation de fatigue, de perte de puissance musculaire, et plus nettement encore par la sensation d'essoufflement. Ces phénomènes portés à leur plus haut degré, lorsque la chaleur, l'encombrement s'y ajoutent, produisent dans des troupes en marche, la syncope ou des troubles asphyxiques d'insolation ou de surmenage.

Dans ces cas là, il se produit une diminution dans l'activité de la réduction, parce que les échanges sont ralentis par action nerveuse, parce que l'oxygénation de l'hémoglobine ne se fait plus normalement dans les poumons, et, enfin, parce que la consommation de l'oxyhémoglobine par les muscles est exagérée.

Quelques exemples feront comprendre toutes ces actions différentes.

De simples efforts, tels que des pressions sur un dynamomètre, si elles sont répétées, peuvent produire une augmentation de l'activité.

Par exemple, je pratique, avec la main droite, quarante-deux pressions sur un dynamomètre, les efforts produits variant entre 48 et 39 kilogrammes, la durée de la réduction était avant l'expérience de 55 secondes à droite, avec une activité égale à l'unité et une tem-

pérature buccale de 37°, après les efforts, la température s'est élevée à 37°,5 la durée de réduction étant de 45 secondes, l'activité correspondante à 1,10 à 1,20.

Ascensions à la Tour Eiffel. Observations. — Trois personnes montent à pied au sommet de la tour, l'ascension dure 44 minutes. L'activité de la réduction donne les chiffres suivants.

N° 1 en bas 0.53 en haut 0.78
N° 2 en bas 0,60 en haut 0,80
N° 3 en bas 0,60 en haut 0,52

L'activité est augmentée chez les deux premiers qui ont produit un travail évaluable en chiffre rond, à 0,10 cheval-vapeur, chez le troisième il y a eu diminution, mais comme il pesait davantage le travail était de 0,12 cheval-vapeur et, en outre, le sujet de l'observation était fatigué et essoufflé, chez lui seul le nombre des respirations était augmenté (36 à la minute) (1).

L'*escrime*, est un des exercices les plus complets et les plus actifs. Elle s'accompagne d'efforts, d'excitations musculaires rapides, brusques, variées, et met en jeu tout le système

(1) A. Hénocque. — *Influence de l'ascension à 300 mètres sur l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine.* Archives de physiologie normale et pathologique. Cinquième série, I, p. 710.

musculaire, avec des associations coordonnées, et un notable développement de l'énergie cérébrale ; c'est pourquoi on observe facilement de grandes variations de l'activité, suivant la prolongation, la vigueur des efforts et aussi l'état de l'entraînement.

C'est ainsi qu'examinant plusieurs sujets en bonne santé et dans diverses conditions, j'ai trouvé, en règle générale, une augmentation de l'activité dans les leçons régulières, mais quelquefois aussi une diminution à la suite d'assauts à l'épée, trop vivement menés.

Chez un jeune homme de vingt ans vigoureux ayant 13 % d'oxyhémoglobine, 8 leçons d'escrime ont donné toujours une diminution de la durée, en moyenne de 23″ la plus forte étant de 35″ et la moindre de 15″, en même temps l'activité a toujours augmenté de 0,34 en moyenne, pour une activité moyenne de 0,92. Le minimum a été de 0,17, c'est à-dire que l'activité s'est élevée de 0,63 à 0,80, les maxima ont été de 0,54, l'activité montant de 0,76 à 1,30 et enfin même de 0,78 l'activité s'élevant de 1,08 à 1,86.

L'usage du *tricycle* et du *vélocipède* développe l'activité de la réduction, et deviendra un des meilleurs moyens de thérapeutique pour obtenir la régularisation des échanges, aussi bien

qu'il est déjà un mode de sport associé à l'hygiène.

Ici encore il faut distinguer l'effet chez le débutant, qui est l'*action excitatrice*, pouvant amener la dyspnée, d'avec la simple action après entraînement et avec exercice modéré, qu'on peut appeler *action tonique*, sans dyspnée; et enfin l'effet des courses de vitesses ou dans les trajets prolongés qu'on peut appeler l'*action d'effort* qui, à son degré plus élevé, devient la fatigue et le surmenage.

Exemples : Des promenades en tricycle à vitesse modérée, mais durant trois quarts d'heure, ont produit chez moi des augmentations de l'activité de 1 à 1,25, de 0,95 à 1,15, de 0,85 à 1.10, de 0,90 à 1.20, c'est-à-dire des diminutions dans la durée correspondante de 7 , 10", 15", 16", soit des oscillations entre des durées de 70 à 50 secondes.

Le vélocipède, ainsi qu'on pouvait le prévoir, amène une augmentation de l'activité même, chez les cyclistes entraînés, si la course est prolongée, je choisis les deux observations suivantes qui peuvent servir de type.

Observations : E-H., Poids au départ : $67^{kg},500$, machine pesant $19^{kg},600$, route parcourue : $17^{km},600$ en 1 heure, soit environ 1 kilomètre en 3 minutes et de-

mie. Or, au départ, la durée était de 90", au retour elle était descendue à 75", l'activité de réduction, de 0,66 au départ, était montée à 0,80 (oxyhémoglobine 12 %).

Observations : A-H., 16 ans. Poids : 65kg,800 16 kilomètres en 1 heure 20 ou 1 kilomètre en 5 minutes, 1 200 mètres en montée, 1 kilomètre en descente.

La durée au départ était de 90", elle est descendue à 60". L'activité a donc augmenté de 0,66 au départ à 0,95 au retour (quantité d'oxyhémoglobine 11 %).

En résumant toutes mes observations j'ai trouvé que l'étude de l'activité de réduction peut nous donner la mesure de la fatigue et du surmenage dans la plupart des exercices de sport ou de gymnastique, parce que l'activité des échanges est en quelque sorte le résumé de toutes les influences des diverses fonctions physiologiques.

Les *influences du milieu* sur l'activité des échanges n'ont encore été étudiées que dans quelques circonstances déterminées. J'ai montré que l'ascension rapide à la tour Eiffel sans effort, comme elle est produite au moyen de l'ascenseur, élève l'activité de la réduction très notablement, ainsi d'ailleurs que la tension artérielle au sphygmo-manomètre, ainsi que je l'ai constaté dans une expérience avec M. le professeur Potain

et plusieurs de ses élèves. Mais il ne faudrait pas en conclure qu'il en est de même pour des hauteurs beaucoup plus grandes. C'est ainsi que, d'une part, j'ai trouvé pour moi et pour plusieurs sujets une augmentation d'activité à la hauteur de 300 mètres, cette augmentation persistant et s'accentuant au bout d'une heure, d'autre part, même effet pour une ascension en funiculaire de Territet à Glyon, 300 mètres au-dessus du lac de Genève. Cependant, l'ascension au glacier de Grindelwald, 1057 mètres, à Murren, 1636 mètres, l'ascension au Righi, 1800 mètres, toujours en funiculaires ou chemins de fer, m'a donné des résultats plus variables, augmentation légère pour moi, diminution légère pour une autre personne; il serait fort intéressant d'étudier les causes de ces variations, suivant les diverses altitudes, et aussi dans le mal de montagne.

Henri de Parville a observé au mois d'août 1887 un sujet ayant suivi une cure de montagne, la quantité d'oxyhémoglobine s'est élevée de 11,5 % à 12,5 %, la durée de la réduction anormale, de 100 secondes est descendue à 70 secondes. par conséquent l'activité des échanges égale à 0.57 ou environ la moitié de la normale, c'est-à-dire fort ralentie s'est modifiée par la cure de montagne de façon à atteindre 0.90, c'est-à-dire presque l'unité normale.

J. E. Monjarras observant avec ma méthode, à Potosi (Mexique) à l'altitude de 1890 mètres, et dans la région équatoriale, a trouvé sur 150 individus, agents de police, domestiques, ouvriers qu'en cette région, il y a augmentation relative du nombre des globules rouges, par rapport à la quantité moyenne d'oxyhémobine, qui est à Potosi moindre que chez les Européens et plus particulièrement en France (*Communication au Congrès international de Médecine de Rome*, 1894).

27. Variations pathologiques. — Dans tout état pathologique la nutrition est troublée, l'activité des échanges est modifiée, ainsi que le démontrent les moyens d'investigation qui nous peuvent renseigner sur les modifications de la circulation de la respiration et de la nutrition générale, tels que l'analyse urologique, l'analyse de la capacité respiratoire du sang. Mais bien plus facilement et plus rapidement que par ces procédés de laboratoire, l'hématospectroscopie nous donne, sur l'activité de la réduction, des renseignements précieux en pathologie.

Au point de vue de leur influence sur l'activité de la réduction on peut diviser les états morbides en trois groupes, suivant qu'ils produisent la diminution ou l'augmentation de l'activité de réduction, ou enfin qu'ils s'accompagnent d'al-

ternatives d'augmentation et de diminution, suivant la marche de la maladie ou les complications qui surviennent.

a) *Diminution de l'activité de réduction.* La chlorose ou chloro-anémie est le type des maladies avec ralentissement des échanges. En même temps que chez les chlorotiques il existe une diminution de la quantité d'oxyhémoglobine, c'est-à-dire l'anémie, on observe une diminution caractéristique de l'activité de réduction, qui est en quelque sorte indépendante de l'anémie. En effet, ainsi que je l'ai démontré, l'activité de réduction chez les chlorotiques est constamment moindre que dans les anémies symptomatiques de traumatisme ou de diverses affections, de sorte qu'au point de vue hématoscopique, la chlorose est une anémie avec ralentissement des échanges. Cette notion, qui est d'ailleurs tout à fait en rapport avec ce que nous savons de plus précis sur la nutrition des chlorotiques offre une grande importance dans la thérapeutique de la chlorose ; car il ne suffit pas, chez les malades, d'employer la médication martiale (le fer sous ses formes si diverses) dans le but de rétablir la richesse du sang en globules ou en hémoglobine, il faut encore exciter la nutrition générale de façon à obtenir une acti-

vité des échanges normale, d'où la nécessité d'employer les moyens dynamogéniques de la nutrition, généraux comme l'hydrothérapie, les frictions, l'exercice, ou thérapeutiques, tels que la strychnine, l'ozone, etc. Cette notion explique bien les cas où l'anémie ayant disparu passagèrement ou définitivement, la chlorose persiste, et même dans un âge plus avancé se transforme en manifestations arthritiques ou goutteuses, qui sont aussi une autre forme de ralentissement des échanges.

La diminution de l'activité de réduction, s'observe d'ailleurs comme manifestation symptomatique dans la plupart des affections qui amènent des modifications dans la nutrition, soit dans certaines anémies avec altérations du système hématopoiétique, c'est-à-dire avec troubles dans la formation du sang, telles que la lymphadénie, la scrofule, où elle peut descendre au quart de la normale, soit dans les troubles de nutrition générale, tels que l'obésité, l'anémie de croissance. Les affections intestinales, telles que les dyspepsies gastro-intestinales, les entérites chroniques, la dysenterie, peuvent s'accompagner d'une dénutrition telle que l'activité descend à 0,55 — 0,50 et moins encore.

Cette diminution d'activité peut dépendre de troubles nerveux ; en effet, elle a été constatée

chez un grand nombre de névropathes, des hystériques, des neurasthéniques, chez ceux qui ont subi un choc nerveux, où dont le cerveau a été le siège d'accidents organiques : tels qu'une hémorrhagie cérébrale (0,55), une commotion cérébrale (0.50) et chez ceux qui ont des lésions chroniques du système cérébro-spinal (ataxiques, 0.30). Parmi les affections diathésiques, le cancer, dans ses diverses formes, me semble déterminer une modification de l'activité des échanges comparable avec celle que présentent les chlorotiques.

En effet, mes observations et celles de Porge[1], nous ont montré qu'en général il y a, chez les cancéreux, ralentissement des échanges, les chiffres les plus élevés atteignent 0,75, les plus bas descendent à 0,20. Dans certains cas, les hémorrhagies, les suppurations accentuent ce symptôme par suite de l'anémie qu'elles entretiennent, mais le cancer à lui seul suffit à amener un ralentissement des échanges qui augmente jusqu'à la cachexie [2].

---

(1) Porge. — *Observations prises dans le service de M. le Dr Geoffroy*, thèse citée p. 23.

(2) Hénocque et Bazy. — *Applications de l'analyse spectroscopique du sang à la chirurgie.* Congrès de Chirurgie, 1891.

b) *L'augmentation de l'activité de réduction* s'observe dans des limites fort étendues, puisque, même à l'état physiologique elle peut s'élever à 1,25, 1,55 et même 2 (après une douche chaude). A l'état pathologique on l'observe fréquemment, dans la pléthore, les congestions pulmonaires, le purpura rhumatismal, l'angine, la fièvre herpétique, dans l'emphysème pulmonaire, l'eczéma, l'irritation spinale. Elle se présente d'une façon transitoire chez les convalescents, à la suite d'hémorrhagies, et comme résultat d'une cure thermale (bains de mer, Salies, St-Honoré, Aix), etc.

Jusqu'à présent, cependant, je n'ai pas établi une relation aussi directe entre l'augmentation d'activité et des états morbides caractérisés, que celle qui existe pour la diminution d'activité. La complexité des causes de l'augmentation de l'activité nécessite encore des recherches très multipliées avant qu'il soit possible d'établir des conclusions plus précises.

c) C'est ce qui résulte de l'étude des modifications de l'activité des échanges dans diverses maladies. Par exemple, dans le diabète, qui est considéré en général comme un état morbide avec ralentissement de nutrition, j'ai trouvé, au contraire une relation constante entre la quantité

de sucre urinaire excrétée heure par heure, et l'activité de la réduction chez des malades atteints de diabète arthritique, avec glycosurie modérée ; chez ceux-là, l'augmentation de la glycosurie coïncidait avec l'augmentation de l'activité des échanges.

Ce phénomène est en accord avec ce fait que le soir, et surtout pendant la nuit, l'activité de réduction est constamment diminuée, l'excrétion de glycose baisse sensiblement. Il n'en est plus de même dans le diabète maigre, et dans la glycosurie intense ou cachectique [1].

Dans la *tuberculose*, qui peut être considérée comme type d'affection microbienne à marche chronique, l'activité de réduction est modifiée suivant le siège ou l'évolution des lésions locales. Sur 36 phtisiques, j'ai observé l'activité normale dans les périodes d'amélioration, elle a même été dépassée dans les moments de recrudescence de l'affection, et aussi dans les premiers jours du traitement par les injections du liquide de Koch, ainsi que je l'ai constaté chez les malades traités par le professeur Cornil à l'hôpital Laennec

---

[1] A. Hénocque. — *De la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de la réduction de cette substance chez les diabétiques.* Archives de Physiologie, 1er janvier 1889, n°9.

et à la Charité [1]. Chez des malades dans les mêmes conditions, ayant reçu les injections du liquide orchitique de Brown-Séquard, l'activité a augmenté en même temps que le poids du corps.

C'est dans la tuberculose osseuse que l'on observe la dépression de l'activité de réduction la plus grande (0,19 dans un cas de coxalgie), au contraire, dans les manifestations cutanées telles que le lupus, l'activité est souvent exagérée.

En somme, les tuberculoses osseuses ou ganglionnaires s'accompagnent d'une anémie prononcée avec ralentissement des échanges, symptomes témoignant de la faible résistance de l'organisme à l'infection bacillaire.

La tuberculose pulmonaire ou phtisie commune, au premier degré présente une activité de réduction variable, suivant l'influence d'une anémie, d'une chlorose antérieures, de l'apparition d'hémoptysies, mais l'activité oscille en général autour de la normale. Il en est autrement à la deuxième et à la troisième période où les échanges se ralentissent de plus en plus à

---

(1) Hénocque. — *Des applications de l'analyse spectroscopique du sang à l'étude des médications dans la tuberculose.* Congrès pour l'étude de la tuberculose. 1891. p. 632.

mesure que les lésions deviennent plus profondes, plus étendues et enfin dans la cachexie terminale.

La *fièvre typhoïde* représente le type des maladies zymotiques c'est-à-dire des maladies microbiennes à marche progressive, relativement rapide, cycliques offrant des phases si bien déterminées en clinique qu'un médecin peut la reconnaître à la seule inspection de la courbe qui représente les variation quotidiennes de la température d'un typhique. Les recherches que j'ai faites avec G. Baudouin [1] m'ont permis d'établir dans le Chap. IV, p. 98, les variations de la quantité d'oxyhémoglobine, or, les courbes qui représentent les variations de l'activité de réduction qui sont en général en rapport avec celles des quantités de l'oxyhémoglobine présentent des oscillations plus accentuées. L'activité des échanges peut s'abaisser à 0,20 pour remonter à 0,50 dans la convalescence et atteindre 0,70 à 0,80 lorsque la guérison est confirmée.

Le résultat le plus remarquable de ces re-

---

(1) A. Hénocque et G. Baudouin. *Des variations de la quantité d'oxyhémoglobine et de l'activité de la réduction de cette substance dans la fièvre typhoïde.* Cpt. Rend. Ac. des Sciences t. CVI, 23 avril 1888 et *Gazette Hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*, p. 584, 601, 604. 1888.

cherches cliniques résulte de la comparaison de la marche de la température avec l'activité des échanges; en effet, en étudiant comparativement les courbes qui représentent des notations quotidiennes de ces expressions symptomatiques, nous avons constaté ce fait général, dans la fièvre typhoïde qu'aux maxima de température correspondent les minima d'activité de réduction. il y a, en d'autres termes, un rapport constant et direct entre l'élévation de température et la lenteur de la réduction. Et, par suite, l'activité de la

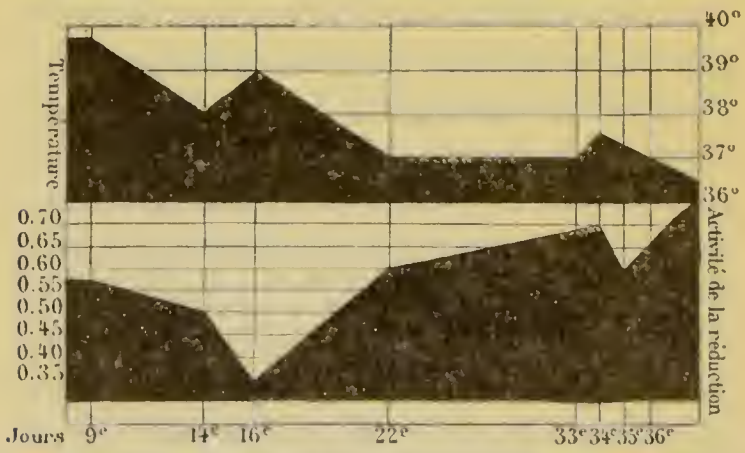


Fig. 21. — Courbes comparées de la température et de l'activité de la réduction dans la fièvre typhoïde. Observation Gal.... Hôtel-Dieu, 1888 (Hénocque et Baudouin).

réduction ou l'énergie de consommation de l'oxygène du sang par les tissus est en proportion inverse de l'élévation de la température. La *fig.* 21 est un exemple fort démonstratif de ces rap-

ports inverses de la température et de l'activité, les courbes obtenues offrent une symétrie remarquable.

Cette conclusion de nos recherches que l'intensité de la fièvre amène une diminution simultanée de l'activité des oxydations ou des échanges peut sembler paradoxale, puisque l'on a admis longtemps que dans la fièvre il y a une augmentation de l'élimination d'acide carbonique et de l'urée, que les combustions sont exagérées « la fièvre brûle » mais la question est plus complexe. Dans la fièvre (d'origine septique) et en particulier dans la fièvre typhoïde, la consommation d'oxygène peut être accrue, mais le travail de désassimilation, s'exagérant lui aussi, accumule les déchets organiques que l'oxygène du sang ne peut suffire à brûler, d'où résulte un ralentissement des échanges.

28. Influences des divers agents thérapeutiques et des médications sur l'activité de la réduction. — Les agents thérapeutiques peuvent modifier l'activité de la réduction, soit en agissant sur le sang directement, ou sur les organes qui préparent ou réparent le sang (hématopoiétiques ou hématosiques) soit par action sur les centres nerveux trophiques conséquemment sur les échanges intimes des tissus. Dans

ce vaste champ d'observations, il suffit pour le moment, de limiter des territoires généraux, c'est pourquoi la classification la plus simple nous amène à diviser les médicaments en trois groupes suivant qu'ils augmentent l'activité de la réduction, qu'ils la diminuent, ou bien, qu'agissant dans l'un ou l'autre sens, ils tendent à produire une régularisation de l'activité des échanges.

Parmi les *agents qui relèvent l'activité des échanges* les uns agissent sur la reconstitution immédiate des globules, comme le fer, la viande, une alimentation tonique. les autres s'adressent directement au système nerveux pour en fortifier, exalter ou « dynamogénier » les fonctions, tels sont les amers, la strychnine, les douches. D'autres tels que l'ozone, l'arsenic, la caféine, agissent en même temps sur le système nerveux, la nutrition générale, et l'hématose.

C'est dans la chloro-anémie qu'on trouve les exemples les plus frappants des effets qu'on peut obtenir en suivant cette double indication de l'anémie globulaire et du ralentissement des échanges. Renvoyant à mes publications les médecins qui voudront étudier documentairement ce sujet, je citerai seulement la conclusion qui en a été reproduite par Porge, dans sa thèse inaugurale.

Les observations cliniques des effets de la médication martiale et du traitement général dynamogénique dans la chlorose, montrent que les deux facteurs, anémie et ralentissement des échanges, suivent des courbes parallèles sinon égales. En général, l'amélioration se définit par des chiffres plus élevés de l'hémoglobine et de l'activité. Cependant cette dernière reste souvent en retard ; il n'est pas rare de constater que, tandis que l'hémoglobine est déjà élevée de 11,5 à 12 %, l'activité se tient dans le milieu de l'échelle atteignant péniblement 0,50 à 0,60, d'où la nécessité d'adjoindre à la médication martiale, les excitants de la nutrition générale tels que les amers, la strychnine, puis les frictions, l'électricité, les douches, en somme ne pas perdre de vue qu'après la disparition des symptômes de l'anémie la guérison complète ne peut être affirmée que si l'activité des échanges redevient normale, ce qui ne s'obtient que par une intervention prolongée des agents dynamogéniques des centres nerveux trophiques.

Les *médicaments qui diminuent l'activité de la réduction* sont nombreux ; la plupart des antithermiques, la kairine, l'antipyrine, l'exalgine, l'acétanilide et la paraldéhyde ralentissent l'activité. Les nitrites d'amyle et de sodium agissent cer-

tainement par destruction d'un certain nombre de globules rouges, ou par action sur les centres thermiques ; les deux modes d'action peuvent être observés suivant les doses, c'est ainsi que j'ai vu l'antipyrine et l'éxalgine produire à doses toxiques de la méthémoglobine avec le ralentissement des échanges, tandis que l'acétanilide même à dose médicamenteuse, produit la diminution de l'activité, et ce résultat contre-indique l'usage de l'acétanilide dans l'épilepsie, où l'on observe déjà du ralentissement des échanges.

Le *chloroforme*, employé comme anesthésique est le type du médicament qui agit par action du système nerveux sur la nutrition générale en produisant une diminution des échanges. En effet, ainsi que je l'ai démontré dans des recherches faites avec Bazy, le ralentissement des échanges est de règle dans l'anesthésie par le chloroforme, indépendamment de la perte de sang, et en dehors de tout phénomène asphyxique. Dans les cas de mort subite au début de l'anesthésie, l'arrêt des échanges est complet et ce n'est pas l'asphyxie qui est la cause de la cessation de la vie.

Les *agents médicamenteux* qui produisent tantôt l'augmentation, tantôt la diminution de l'activité suivant l'état pathologique individuel,

sont nombreux. Ils peuvent être considérés comme régulateurs de l'activité des échanges, c'est-à-dire qu'ils ont pour effet de ramener la durée de la réduction vers la normale. Les iodures alcalins peuvent être considérés comme les types de ces médicaments, et c'est dans l'emphysème, dans les troubles de la circulation pulmonaire, la cyanose, que ces médicaments agissent le plus efficacement soit sur la quantité d'oxyhémoglobine soit sur l'activité des échanges.

En somme, il est facile, par des médications appropriées, de répondre à toutes les indications fournies par l'étude de l'activité des échanges et de la quantité d'oxyhémoglobine du sang. Mais c'est dans l'examen des résultats produits par les médications thermales et hydrominérales que ces recherches présentent une utilité plus particulièrement incontestable.

Pour ne citer qu'un exemple, c'est par l'étude du sang et de l'activité de réduction que j'ai démontré qu'avec les eaux chlorurées sodiques de Salies, on obtient soit l'effet excitant c'est-à-dire l'augmentation de l'activité et de l'oxyhémoglobine avec les bains au quart, soit au contraire la diminution de l'activité avec l'effet sédatif et résolutif en employant les bains additionnés d'eaux mères, résultat inattendu mais confirmé par la clinique.

Pour achever cet exposé des applications de la spectroscopie biologique à l'analyse de la matière colorante du sang, importante au plus haut degré pour le médecin et pour le physiologiste, il me resterait encore à présenter les résultats de l'analyse spectrale de l'hémoglobine dans les humeurs et les organes ; c'est dans un second volume de la collection des Aide-Mémoire consacré à la spectroscopie des organes, des tissus, des humeurs que je compléterai l'étude du sang dans les tissus vivants, en même temps que je décrirai les caractères spectroscopiques des matières colorantes observées dans les êtres organisés.

TABLE DES MATIÈRES

—

Pages

INTRODUCTION 5

CHAPITRE PREMIER

Notions générales 7

Définition de la spectroscopie biologique . . . 7
Méthodes et procédés 9
Objets d'étude. Applications pratiques 14
Historique 18

CHAPITRE II

Notions techniques 24

Les spectroscopes 24
Classification des spectres lumineux 35
Spectres de diffraction. Réseaux 38
Spectrométrie.. 44

CHAPITRE III

Pages

Spectroscopie du sang 48
Historique 48
Caractères de l'hémoglobine 53
Analyse qualitative et quantitative de l'oxyhémoglobine 58
Méthode de l'auteur. Hématoscopie, hématospectroscopie. 63
Technique de l'hématoscope et des hématospectrocopes 83

CHAPITRE IV

Applications de l'hématospectroscopie à la physiologie et à la médecine 90

Variations physiologiques de la quantité d'oxyhémoglobine. 91
Variations pathologiques de la quantité d'oxyhémoglobine 95
Anémies. Hémorrhagies. Pléthore 95
Fièvre typhoïde 98
Tuberculose. Cancer 100
Diabète. Épilepsie. Hystérie. Myxoedeme . . 102
Influence des agents thérapeutiques sur la quantité d'oxyhémoglobine. 103
a. Médicaments et médications qui augmentent cette quantité. Toniques. Hydrothérapie. Médication martiale. Fer. Ozone 104

Page

b. Médicaments qui diminuent cette quantité, antithermiques. Acétanilide, etc. 108
c. Médicaments régulateurs de l'hématose, alcalins, iodures. 109
De la quantité d'oxyhémoglobine chez les animaux 110

CHAPITRE V

Dérivés de l'hémoglobine. 115

Rôle de l'oxyhémoglobine 115
Cycle de l'hémoglobine 118
Dérivés de l'hémoglobine 124
Hémoglobine réduite. 124
Caractéristique de la mort 135
Méthémoglobine 136
Hémoglobinhémie 144
Empoisonnements par les vapeurs nitreuses ; le chlorate de potasse, l'hydrogène arsénié, l'acétanilide, etc. 145
Les hématines 148
Hématine acide. 148
Hématine reduite (hémochromogène). . . . 150
Hémato-porphyrine 150
Dérivés toxicohémiques 151
Hémoglobine oxycarbonée 152

CHAPITRE VI

Pages

Spectroscopie du sang dans les tissus vivants. Réduction de l'oxyhémoglobine. Activité de la réduction. 156

Recherche de l'oxyhémoglobine à la surface cutanée 157
Étude de la réduction de l'oxyhémoglobine à travers l'ongle du pouce 160
Activité de la réduction. Sa formule 166
Activité des échanges gazeux entre le sang et les tissus 169

CHAPITRE VII

Variations de l'activité de la réduction de l'oxyhémoglobine. 170

Variations physiologiques 170
" diurnes 171
Influence du froid, et de la chaleur 172
" des efforts 174
Ascensions à la tour Eiffel. 175
Escrime. Vélocipède 176
Influence du milieu 178
Variations pathologiques 180
a. Diminution de l'activité de réduction . . . 181
Chlorose. Cancer 182

Pages

b. Augmentation de l'activité de réduction . . 184
c. Variations dans le diabète sucré, la tuberculose, la fièvre typhoïde 184
Influence des agents thérapeutiques et des médications 189
a. Augmentation de l'activité 190
Fer. Ozone. Strychnine. Toniques. Massage. . 190
b. Diminution de l'activité 191
Acétanilide. Antipyrine. Exalgine 192
Chloroforme. 192
c. Régulation de l'activité. 193
Iodure de potassium. Arsenic. Alcalins . . . 193
d. Médications thermales 193
Eaux chlorurées sodiques 193

ST-AMAND (CHER). IMPRIMERIE DESTENAY, BUSSIÈRE FRÈRES